



# EXTRATO LIFILIZADO E MICROENCAPSULADO DE COPRODUTO DA PRÓPOLIS APLICADOS EM BISCOITOS DE POLVILHO

R. Rodrigues<sup>1</sup>, D. Bilibio<sup>2</sup>, E. C. Perin<sup>1</sup>, S. T. Carpes<sup>1</sup>

1- Departamento de Química - Programa de Pós graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos – PPGTP, Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Campus Pato Branco, Via do Conhecimento Km 1, CEP: 85503-390 Pato Branco – PR – Brasil. Telefone: (46) 3220-2596 – e-mail: ([rrodrigo.rdr@gmail.com](mailto:rrodrigo.rdr@gmail.com))

2- Núcleo de Experimentação e Estudos Analíticos – Instituto Federal do Rio Grande do Sul – IFRS, Campus Sertão, Rodovia RS 135, Km 25, Distrito Eng. Luiz Englert, CEP: 99170-000, Sertão – RS – Brasil. Telefone: (54) 3345 –8065.

**RESUMO** – Um dos desafios no uso de coprodutos da própolis como inibidor da oxidação lipídica (OL) em produtos alimentícios consiste em mitigar os efeitos sensoriais desagradáveis dos compostos fenólicos, mantendo no entanto as suas propriedades bioativas. O objetivo desse trabalho foi caracterizar os compostos bioativos do extrato liofilizado (LFCP) e microencapsulado (MECP) do coproduto da extração comercial da própolis por cromatografia líquida e atividade antioxidante (AA) por três métodos. Foi objetivo também avaliar a habilidade desses extratos em reduzir a OL em biscoitos de polvilho durante 45 dias de estocagem. A OL foi determinada pelo método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O processo de spray-drying do MECP apresentou eficiência de 62,97 %, em termos de teor de compostos fenólicos. Pirocatecol, ácido síringico e ácido p-cumárico foram identificados nos extratos, entretanto, o LFCP apresentou AA superior ao microencapsulado. A OL dos biscoitos foi inibida após 45 dias com ambos os extratos.

**ABSTRACT** – One of the challenges in the use of coproducing propolis as an inhibitor of lipid oxidation (OL) in foods is to mitigate the unpleasant sensory effects of phenolic compounds while maintaining their bioactive properties. The objective of this work was to characterize the bioactive compounds of the lyophilized (LFCP) and microencapsulated (MECP) extracts of the commercial extraction of propolis by liquid chromatography and antioxidant activity (AA) by three methods. The objective was also to evaluate the ability of these extracts to reduce the OL in starch biscuits during 45 days of storage. The OL was determined by thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). The spray-drying process at MECP showed an efficiency of 62.97%, in terms of the content of phenolic compounds. Pyrocatechol, syringic and p-cumáric acids were identified in the extracts. However, AA of LFCP was higher than MECP. The OL of the biscuits was inhibited after 45 days with both extracts.

**PALAVRAS-CHAVE:** coproduto da própolis; potencial antioxidante; oxidação; biscoito.

**KEYWORDS:** Propolis co-product; antioxidant potential; oxidation; biscuit.

## 1. INTRODUÇÃO

A solução etanólica da propolis é uma das formas de maior consumo da propolis. Entretanto, durante a sua produção em escala industrial, um coproduto (resíduo) é gerado e a composição química desse coproduto vai depender da propolis que lhe deu origem. Desta forma, o emprego do coproduto da própolis em alimentos está associado aos compostos presentes, principalmente aos compostos fenólicos com potencial antioxidante (Reis et al., 2017; Spinelli et al. 2015). A indústria de alimentos tem procurado obter melhor proveito econômico de



subprodutos como o coproduto da própolis (Reis et al., 2017; Heimback et al., 2014), no entanto, um dos principais desafios para aplicação da própolis solúvel em álcool em alimentos, se deve ao aroma residual, característico da própolis e que nem sempre é bem aceito sensorialmente (Spinelli *et al.*, 2015). Nesse sentido, uma possível alternativa para minimizar os efeitos de sabor e odor desses compostos, pode ser realizada por meio da microencapsulação por *spray dryer* (REIS *et al.* 2017).

Outro fator importante na industrialização dos alimentos é a utilização recorrente de antioxidantes sintéticos como BHT, BHA e TBHQ (Butil hidroxitolueno, Butil hidroxianisol e Terc-butil-hidroquinona) que, em geral, também são referenciados por seus efeitos nocivos à saúde (Shahidi; Zhong, 2010b; Nooshkam *et al.*, 2019). Esses antioxidantes sintéticos geralmente empregados em produtos ricos em óleos e gorduras agem no sentido de inibir a oxidação dos lipídeos, a qual afeta diretamente as propriedades de conservação dos alimentos.

À exemplo desses produtos ricos em lipídeos, o biscoito de polvilho é bastante susceptível a oxidação lipídica. A massa base do biscoito de polvilho é resultante da mistura e cocção de fécula de mandioca, água, óleos ou gorduras e sal, podendo ser acrescidos de outros ingredientes como ovos, leite e conservantes (Brasil, 2001; Brasil, 2005).

Frente ao exposto, o presente estudo buscou desenvolver um biscoito de polvilho contendo o coproduto de própolis microencapsulado, avaliar o potencial antioxidante desse coproduto, bem como avaliar seu efeito como inibidor da oxidação lipídica em biscoitos de polvilho.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus Pato Branco*, na Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, *Campus Chapecó* – SC e no Instituto Federal do Rio Grande do Sul – IFRS, *Campus Sertão-RS*. Amostra de coproduto da extração comercial de própolis foi fornecida pela empresa Breyer & Cia Ltda (União da Vitória, Paraná, Brasil). O coproduto continha teor de umidade de 7% e foi submetido ao processo de extração hidroalcoólica (etanol 80 % v/v) sob agitação à 40 °C por 60 min. Após esse período o extrato foi filtrado e o sobrenadante foi concentrado em evaporador rotativo à 40 °C, resultando no extrato hidroalcoólico do coproduto da própolis (EHP).

Uma fração do EHP foi submetido à liofilização resultando no material liofilizado do coproduto da própolis (LFCP) e outra parte empregada na obtenção do microencapsulado (MECP) por *spray drying*. O processo de encapsulação foi procedido de acordo com o descrito por Reis et al. (2017), tendo como material de revestimento amido modificado (Capsul®).

EHP e MECP foram analisados quanto ao teor de compostos fenólicos (Singleton et al., 1999) sendo os resultados expressos em mg de ácido gálico por g de amostra. O teor de fenólicos superficiais e totalmente revestidos do MECP foram empregados no cálculo da eficiência (%) da encapsulação (Reis et al., 2017). Os compostos fenólicos de superfície do MECP foram obtidos da solução contendo 100 mg mL<sup>-1</sup> de MECP em etanol 80 % (v.v), após centrifugação a 4000 rpm (2 min) e filtração em papel Watman n° 5. Já os compostos fenólicos totalmente encapsulados foram extraídos de solução de MECP, 25mg mL<sup>-1</sup> em metanol 80 % (v.v) após etapas de agitação em vortex (2 min), sonicação (15 min), centrifugação a 6000 rpm por 5 min e filtragem em papel Watman n° 5.

Atividade antioxidante das amostras LFCP e MECP, foi aferida pelos métodos de sequestro de radicais DPPH (Brand-Williams et al., 1995) e ABTS (Re et al., 1999) e poder redutor de ferro (Fe<sup>2+</sup>) FRAP (Benzie e Strain, 1996), sendo os resultados expressos em termos de µmol Trolox.g<sup>-1</sup> de amostra (DPPH e ABTS) e µmol Fe<sup>2+</sup>.g<sup>-1</sup> de amostra (FRAP). Tentativa de identificação e quantificação dos compostos fenólicos individuais para o LFCP e MECP foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa com fonte de ionização por eletrospray (HPLC-ESI-MS em HPLC-MS-2020 Shimadzu, Kyoto, Japão) com base em métodos de análise quantitativa e qualitativa de compostos fenólicos – APL-MS04 Shimadzu do Brasil e Arruda et al. (2018).

Para determinação do potencial antioxidante lipídico das amostras, foram elaboradas quatro formulações de biscoito de polvilho. A massa base foi elaborada com polvilho azedo (41,12%), sal (1,31%), óleo de canola (16,45%), leite (16,45%), ovos (8,22%) e água (916,45%). As formulações elaboradas foram: formulação controle



(isenta de antioxidante) (F1) e as outras três para emprego dos antioxidantes LFCEP (F2), MECP (F3) e BHT (F4). A quantidade de antioxidante BHT empregada foi de acordo com o previsto na legislação (Brasil, 1999).

No intuito de avaliar o efeito da adição dos antioxidantes em alimentos, biscoitos de polvilho foram elaborados, tendo como massa base: polvilho azedo (41,12%), sal (1,31%), óleo de canola (16,45%), leite (16,45%), ovos (8,22%) e água (916,45%). Quatro formulações de biscoito foram consideradas, sendo uma formulação de controle (F1) (isenta de antioxidante), e três formulações caracterizadas pela presença de antioxidante. O antioxidante artificial empregado foi o BHT (F2) na quantidade de 100 mg.kg<sup>-1</sup> de gordura, conforme previsto na legislação (Brasil, 1999) e, duas formulações com antioxidantes naturais, MECP (F3) com 500 mg.kg<sup>-1</sup> de gordura e LFCEP (F4) com 750 mg.kg<sup>-1</sup> de gordura. As diferentes formulações de biscoitos de polvilho foram analisadas quanto a oxidação lipídica pelo método de TBARS (Raharjo et al., 1992) adaptado. As determinações de TBARS foram realizadas durante período de 45 dias do armazenamento, nos tempos 0, 15, 30 e 45 dias, sendo os biscoitos armazenados em embalagens plásticas, a temperatura ambiente, semelhantes as condições comerciais.

Os resultados em geral são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Os dados foram analisados estatisticamente utilizando o programa computacional STATISTICA. Os resultados de atividade antioxidante e TBARS foram submetidos a análise de variância (ANOVA) ( $p \leq 0,05$ ) e em caso de significância estatística foram comparados os efeitos de cada amostra na atividade antioxidante pelo teste *t* ( $p \leq 0,05$ ), e para as formulações de biscoito foi empregado o teste de média Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise da amostra de EHP empregado na elaboração do MECP apresentou teor fenólico total de 61,56 mg EAG.g<sup>-1</sup> de amostra (tabela 1), valores semelhantes a própolis analisada por Cottica et al., (2011) que apresentaram teor de compostos fenólicos na faixa de 48 a 87 mg EAG.g<sup>-1</sup>, estando de acordo com teor de compostos fenólicos em própolis propostos por Kumazawa et al., (2004), entre 31 e 299 mg EAG.g<sup>-1</sup> de amostra de própolis (Cottica et al., 2011).

O teor de compostos fenólicos presentes na superfície das microcápsulas e o teor de compostos totalmente encapsulados foi de 25,65 e 69,28 mg EAG.g<sup>-1</sup> de amostra, respectivamente, (tabela 1) esses resultados inferem uma eficiência de encapsulação de 62,97 %. Na tabela 1 também é apresentado análise do teor de compostos fenólicos para o EHP empregado na obtenção do LFCEP e do MECP.

Tabela 1. Compostos fenólicos totais em amostras de extrato hidroalcoólico do coproduto da própolis (EHP) e no material microencapsulado (MECP) (compostos presentes na superfície e totalmente encapsulados).

Amostra	CFT (mg EAG.g <sup>-1</sup> )
EHP	61,56 $\pm$ 0,76
MECP superfície	25,65 $\pm$ 0,27
MECP totalmente encapsulado	69,28 $\pm$ 0,33

EAG: Equivalente em ácido gálico

Os resultados de eficiência da microencapsulação para o MECP não são tão expressivos quanto resultados observados em estudo de encapsulação de própolis realizado por Reis et al. (2017), 76,86 %, e Andrade et al., (2018), 70,38 %, mas encontram-se dentro da faixa de resultados observadas por Jansen-Alves et al., (2019) que foram de 49,4 a 97,0 %. A metodologia empregada para identificação e quantificação dos compostos fenólicos individuais permitiu a identificação de dois compostos fenólicos no extrato LFCEP, ácido siríngico e ácido p-cumárico, nas concentrações de 427,03  $\mu$ g.g<sup>-1</sup> e 454,98  $\mu$ g.g<sup>-1</sup> de amostra (tabela 2), respectivamente. Enquanto, no MECP foi possível identificar a presença de pirocatecol na concentração de 32,5  $\mu$ g.g<sup>-1</sup> de amostra, conforme Tabela 2 a seguir.

Tiveron et al., (2016) ao analisar amostras de própolis orgânicas da região sul do Brasil identificou ao menos três ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido cafeico e ácido p-cumárico), dentre as quais, OP4, OP5 e OP7 apresentaram concentrações de ácido p-cumárico de 11635  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup>, 1621  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> e 883  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup>,



respectivamente, presentes também no LFCP. Amostras de coproduto de própolis e própolis analisadas por Reis et al. (2017) e Oldoni et al., (2015) também indicaram a presença de ácido *p*-cumárico, nas concentrações de 635,6  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  e 370,5  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de amostra, respectivamente.

Tabela 2. Compostos fenólicos identificados por HPLC-MS em amostras liofilizadas do coproduto da própolis (LFCP) e extrato hidroalcoólico do coproduto da própolis microencapsulado (MECP).

Composto fenólico	Concentração [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	
	LFCP	MECP
Pirocatecol	N.D*	32,5
Ácido siríngico	427,03	N.D
Ácido <i>p</i> -cumárico	454,98	N.D

\*N.D – não detectado

Ademais, a tabela 3 a seguir apresenta os resultados obtidos na determinação da atividade antioxidante das amostras LFCP e MECP.

Tabela 3. Atividade Antioxidante em extratos de coproduto da própolis liofilizados (LFCP) e coproduto da própolis microencapsulado (MECP) por três métodos de determinação (ABTS, DPPH e FRAP).

Amostra	ABTS	DPPH	FRAP
	( $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ )	( $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ )	( $\mu\text{mol Fe}^{2+}\cdot\text{g}^{-1}$ )
MECP	485,92 $\pm$ 0,01*	47,02 $\pm$ 0,00 *	386,69 $\pm$ 0,01 *
LFCP	5041,81 $\pm$ 0,00	496,28 $\pm$ 0,00	3796,28 $\pm$ 0,00

\* representa diferença significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste t.

MECP apresenta resultado da análise por FRAP dentro da faixa de valores observadas nas amostras de própolis (verde, marrom e vermelha) encapsuladas por Andrade et al. (2018) com goma arábica e maltodextrina que apresentaram poder redutor de ferro (FRAP) que varia entre 144,87 e 396,09  $\mu\text{mol Fe}^{2+}\cdot\text{g}^{-1}$ . Valores de atividade antioxidante por ABTS e DPPH para MECP são inferiores quando comparados as diferentes própolis encapsuladas por Andrade et al. (2018), mas superiores aos resultados obtidos por Reis et al. (2017).

A eficiência de encapsulação por spray drying está associada a fatores como temperatura de secagem, propriedades químicas do material de revestimento e do material a ser revestido, modo de preparo e dispersão da emulsão (núcleo/envoltório), (Reis et al. 2017; Andrade et al. 2018; Jansen-Alves et al. 2019) podendo também estar associados as amostras de própolis estudadas, local de origem, sazonalidade das coletas de amostras, e procedimentos de preparo e extração das amostras (Oldoni et al. 2015, Cottica et al. 2011, e Andrade et al., 2017).

Por fim, os resultados das análises de TBARS para os diferentes tratamentos das amostras de biscoito de polvilho são apresentados na tabela 4. De modo geral há poucos registros de análise de oxidação lipídica por TBARS em biscoitos de polvilho, sendo difícil referenciá-los, entretanto, há estudos com pães e derivados de carne. Osuna et al., (2018) analisou por 6 dias duas formulações de pães que diferiam quanto ao óleo vegetal e antioxidantes empregados. Formulação na qual foi empregado óleo de canola, assim como nos biscoitos de polvilho, apresentou comportamento de diminuição nos valores de MDA. No mesmo estudo citado há registros de 11,75 mg de MDA / kg de amostra para amostra formulada com óleo de oliva analisada após 6 dias. Os valores obtidos no estudo dos biscoitos de polvilho são superiores quando comparados a valores de análise de TBARS para produtos cárneos e derivados realizados por Reis et al. (2017) e Carpes et al (2020). Osuna et al. (2018) menciona que valores inferiores para análise de TBARS podem estar associados a um menor percentual de óleos empregados na elaboração do pão como fonte de ácidos graxos poli saturados.

Ainda que os tempos de análise sejam distintos, semelhante ao observado neste estudo com biscoito de polvilho, é possível observar que pão elaborado com óleo de canola e isenta de antioxidante (Osuna et al. 2018) também sofreu redução no teor de MDA, sendo a redução justificada por Osuna et al. (2018) com base em reações de compostos resultantes de oxidações secundárias.

Tabela 4 – Valores médios de TBARS em biscoitos de polvilho armazenados em temperatura ambiente

Tratamento	Período de Armazenamento (dias)			
	0	15	30	45
	TBARS – mg de malonaldeído . kg <sup>-1</sup> de biscoito			
F1	11,20 ± 1,65 <sup>aA**</sup>	8,95 ± 0,34 <sup>a,B</sup>	7,28 ± 0,26 <sup>b*,BC</sup>	6,11 ± 0,20 <sup>a,BC</sup>
F2	12,32 ± 0,31 <sup>a,A</sup>	8,89 ± 0,91 <sup>a,B</sup>	9,01 ± 1,31 <sup>ab,B</sup>	6,01 ± 1,04 <sup>a,C</sup>
F3	12,87 ± 0,08 <sup>a,A</sup>	8,68 ± 0,89 <sup>a,B</sup>	9,30 ± 0,73 <sup>ab,B</sup>	6,58 ± 0,84 <sup>a,C</sup>
F4	11,89 ± 0,52 <sup>a,A</sup>	7,53 ± 1,91 <sup>a,AB</sup>	9,61 ± 0,80 <sup>a,B</sup>	6,64 ± 0,99 <sup>a,B</sup>

F1: amostra controle (isenta de antioxidante); F2: biscoito de polvilho com antioxidante artificial (BHT); F3: biscoito de polvilho com extrato hidroalcoólico do coproduto da própolis microencapsulado (MECP) e F4: biscoito de polvilho com extrato liofilizado do coproduto da própolis (LFCP). Letras minúsculas na mesma coluna representam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey. Letras maiúsculas na mesma linha representam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

## 5. CONCLUSÃO

De maneira geral, o processo de encapsulação de extrato do coproduto da própolis apresentou eficiência satisfatória. LFCP apresentou atividade antioxidante superior aos valores alcançados pelo MECP, possivelmente devido à redução no teor de compostos fenólicos decorrentes do processo de secagem por spray drying para obtenção do MECP. Ainda que o método empregado para identificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida não seja específico para própolis foi possível identificar e quantificar três compostos fenólicos. Atividade antioxidante das amostras LFCP e MECP estão em consonância com resultados obtidos para própolis da literatura. Uma vez que há pouca literatura que versa sobre análise de TBARS em biscoitos de polvilho, considera-se futuramente aplicar outros métodos de análise da oxidação lipídica ou, ainda, de análise do teor de ácidos graxos com por exemplo por cromatografia gasosa, para contribuir com a compreensão e análise do comportamento da oxidação lipídica durante armazenamento em relação aos resultados obtidos por TBARS.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, J. K. S., Denadai, M., Andrade, G. R. S., da Cunha Nascimento, C., Barbosa, P. F., Jesus, M. S., & Narain, N. (2018). Development and characterization of microencapsules containing spray dried powder obtained from Brazilian brown, green and red propolis. *Food Research International*, 109, 278–287. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.04.048>
- Andrade, J. K. S., Denadai, M., de Oliveira, C. S., Nunes, M. L., & Narain, N. (2017). Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. *Food Research International*, 101, 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.066>
- Arruda, H. S., Pereira, G. A., de Moraes, D. R., Eberlin, M. N., & Pastore, G. M. (2018). Determination of free, esterified, glycosylated and insoluble-bound phenolics composition in the edible part of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) and its by-products by HPLC-ESI-MS/MS. *Food Chemistry*, 245, 738–749. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.120>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (1999) Resolução nº 383, de 5 de agosto de 1999. Regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a



- categoria de alimentos 7 – produtos de panificação e biscoitos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/26432>
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2001). Resolução - RDC Nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária Brasil (2005). Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos.
- Fennema, Owen R.; Parkin, Kirk L.; Damodaran, Srinivasan. (2010). Química de Alimentos de Fennema (4.ed, p. 131-178) São Paulo: Artemed.
- Cottica, S. M., Sawaya, A. C. H. F., Eberlin, M. N., Franco, S. L., Zeoula, L. M., & Visentainer, J. V. (2011). Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22(5), 929–935. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011000500016>
- Heimbach, N. S., Ítavo, C. C. B. F., Ítavo, L. C. V., Franco, G. L., Leal, C. R. B., Leal, E. S., Silva, P. C. G., Rezende, L. C., & Silva, J. A. (2014). Resíduo da extração de própolis marrom na dieta de ruminantes: Digestibilidade e produção de gás in vitro. *Archivos de Zootecnia*, 63(242), 259–267.
- Jansen-Alves, C., Maia, D. S. V., Krumreich, F. D., Crizel-Cardoso, M. M., Fioravante, J. B., da Silva, W. P., Borges, C. D., & Zambiasi, R. C. (2019). Propolis microparticles produced with pea protein: Characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities. *Food Hydrocolloids*, 87, 703–711. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2018.09.004>
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, 84(3), 329–339. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00216-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00216-4)
- Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, M. (2019). The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chemistry*, 275, 644–660. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.09.083>
- Oldoni, T. L. C., Oliveira, S. C., Andolfatto, S., Karling, M., Calegari, M. A., Sado, R. Y., Maia, F. M. C., Alencar, S. M., Lima, V. A., Oldoni, T. L. C., Oliveira, S. C., Andolfatto, S., Karling, M., Calegari, M. A., Sado, R. Y., Maia, F. M. C., Alencar, S. M., & Lima, V. A. (2015). 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*, 26(10), 2054–2062. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150186>
- Osuna, M. B., Romero, C. A., Romero, A. M., Judis, M. A., & Bertola, N. C. (2018). Proximal composition, sensorial properties and effect of ascorbic acid and  $\alpha$  - tocopherol on oxidative stability of bread made with whole flours and vegetable oils. *LWT*, 98, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.012>
- Raharjo, S., Sofos, J. N., & Schmidt, G. R. (1992). Improved Speed, Specificity, and Limit of Determination of an Aqueous Acid Extraction Thiobarbituric Acid-Cig Method for Measuring Lipid Peroxidation in Beef. In *J. Agric. FoodChem* (Vol. 40). <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Reis, A. S. dos, Diedrich, C., Moura, C. de, Pereira, D., Almeida, J. de F., Silva, L. D. da, Plata-Oviedo, M. S. V., Tavares, R. A. W., & Carpes, S. T. (2017). Physico-chemical characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at –15 °C. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.033>
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39(11), 4067. <https://doi.org/10.1039/b922183m>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Spinelli, S., Conte, A., Lecce, L., Incoronato, A. L., & Del Nobile, M. A. (2015). Microencapsulated Propolis to Enhance the Antioxidant Properties of Fresh Fish Burgers. *Journal of Food Process Engineering*, 38(6). <https://doi.org/10.1111/jfpe.12183>
- Tiveron, A. P., Rosalen, P. L., Franchin, M., Lacerda, R. C. C., Bueno-Silva, B., Benso, B., Denny, C., Ikegaki, M., & De Alencar, S. M. (2016). Chemical characterization and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of South Brazilian organic propolis. *PLoS ONE*, 11(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165588>