

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**EFEITO DA ADIÇÃO DE EXTRATO DE CHÁ VERDE  
(*Camellia sinensis*) NOS PARÂMETROS DE  
QUALIDADE DE HAMBÚRGUER DE FRANGO**

**RAFAEL SEPÚLVEDA FONSÊCA TREVISAN PASSOS**

Salvador – BA

2020

**RAFAEL SEPÚLVEDA FONSÊCA TREVISAN PASSOS**

**EFEITO DA ADIÇÃO DE EXTRATO DE CHÁ VERDE  
(*Camellia sinensis*) NOS PARÂMETROS DE QUALIDADE  
DE HAMBÚRGUER DE FRANGO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Pasqualin Cavalheiro

Coorientador: Prof. Dr. Maurício Costa Alves da Silva

Salvador – BA

2020

Passos, Rafael Sepúlveda Fonsêca Trevisan.

Efeito da adição de extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) nos parâmetros de qualidade de hambúrguer de frango / Rafael Sepúlveda Fonsêca Trevisan Passos. - 2020.  
67 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Pasqualin Cavalheiro.

Co-Orientador: Prof. Dr. Maurício Costa Alves da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2020.

1. Nutrição - Pesquisa 2. Chá verde 3. Antioxidantes 5. Alimentos - Conservação I. Cavalheiro, Carlos Pasqualin. II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. III. Título

CDD - 644.9

CDU - 664.91



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

## TERMO DE APROVAÇÃO

RAFAEL SEPÚLVEDA FONSÊCA TREVISAN PASSOS

### EFEITOS DA ADIÇÃO DE EXTRATO DE CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*) NOS PARÂMETROS DE QUALIDADE DE HAMBÚRGUER DE FRANGO

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 19 de agosto de 2020.

#### BANCA EXAMINADORA

---

Dr. Carlos Pasqualin Cavalheiro  
Universidade Federal da Bahia  
Orientador

---

Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Burin Fruet  
Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação (SEAPI/RS)

---

Dr<sup>a</sup>. Mariana Nougalli Roselino  
Universidade Federal da Bahia

**Dedico**

Às mulheres da minha vida: minha avó Marialda, minha mãe Mônica, minha tia Kátia e às minhas irmãs Carolina e Luiza.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar à minha avó, Marialda Sepúlveda, por sempre me apoiar em todas as escolhas da minha vida. Agradeço também à minha mãe Mônica, à minha tia Kátia e às minhas irmãs Carolina e Luiza por todo carinho, amor, apoio e incentivo à minha educação. Ao meu pai, Eduardo e à toda a minha família e amigos que sempre estiveram por perto e torcendo por mim.

Agradeço imensamente ao meu orientador, “Prof. Carlos”, por toda a paciência que teve comigo, pelo carinho, preocupação e amizade, e também por acreditar no meu potencial e por me guiar nesta longa caminhada que foi o mestrado, mesmo nos momentos mais difíceis. Com toda certeza um grande exemplo de profissional que eu vou levar ao longo da minha carreira, com muito carinho e respeito. Meus agradecimentos também à “Prof. Mau”, meu coorientador que me acompanha desde o tempo da graduação, me ajudando e me servindo também como exemplo a ser seguido como profissional.

Outro agradecimento muito especial é para a minha equipe do LABCARNE. Minha trajetória nestes dois anos teria sido muito mais difícil sem a presença e ajuda de vocês. Muito obrigado principalmente aos estagiários queridos, Juliana e Brenno, meus “dois braços direitos”. Obrigado também a Samuel, Karoline, Vêronica, Thiago e Mateus, por toda ajuda que me prestaram. Agradeço também aos técnicos Nilma e Rafael Ventin, e à doutoranda Adrielle Bahiense, pela amizade, carinho, acolhimento e cuidados comigo.

Agradecimento importante também ao Laboratório de Pescados e Cromatografia Aplicada (LAPESCA), e, em especial, às Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Carolina Oliveira e Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Janice Druzian por terem aberto o laboratório e às alunas Renata e Larissa, pela paciência e boa vontade em colaborar com algumas das minhas análises. Agradeço também ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos e à minha turma do mestrado, especialmente Margarida, Josy, Iuri, Madian, Karina, Jana e Camilla. Os momentos que passamos juntos ficarão guardados com muito carinho.

Por fim, agradeço à CAPES pela concessão da bolsa de estudos que auxiliou tanto na minha própria manutenção como na compra de materiais para a execução deste projeto.

## RESUMO

PASSOS, R. S. F. T. **Efeito da adição de extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) nos parâmetros de qualidade de hambúrguer de frango.** 2020. 67 f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2020.

Foi avaliado os efeitos da adição de extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) nas características de qualidade de hambúrgueres elaborados com carne de frango e armazenados em temperatura de refrigeração (4 °C) durante 10 dias. Foram realizadas análises de teor de compostos fenólicos e flavonoides totais de extratos obtidos em diferentes condições de extração. No extrato com maior teor de compostos fenólicos (121.55 mg GAE/mL) foi realizada análise de atividade antioxidante através do ensaio de DPPH antes da sua aplicação nos produtos. Posteriormente, os hambúrgueres foram confeccionados e divididos em três grupos: controle e tratamento com adição de 0,5% de 1,0% de extrato de chá verde. Foram realizadas também análises de perda de peso por cocção, composição centesimal, oxidação lipídica, pH, cor, parâmetros de textura, parâmetros microbiológicos e análise sensorial. Os resultados mostraram que o extrato aplicado nos hambúrgueres apresentou capacidade antioxidante *in vitro*, e não alterou a composição nutricional dos produtos ( $P > 0,05$ ). Também foi observado que o extrato reduziu a oxidação lipídica no produto em ambas concentrações utilizadas ( $P < 0,05$ ), e os valores de pH se mostraram menores que 6, o que é indicado para este tipo de alimento. A adição de extrato de chá verde nas duas concentrações reduziu os valores de vermelho nos produtos ( $P < 0,05$ ), reduziu os parâmetros de dureza e mastigabilidade e aumentou o parâmetro de coesividade ( $P < 0,05$ ) no tratamento com 1,0% de chá verde. Contudo, o extrato não demonstrou atividade antimicrobiana no modelo cárneo. Os hambúrgueres de frango com aplicação de extrato de chá verde foram bem avaliados sensorialmente. Em relação ao índice de aceitação, os tratamentos com adição de extrato de chá apresentaram valores acima de 70 %. Assim, pode-se afirmar que o extrato de chá verde representa uma boa alternativa natural para antioxidantes em produtos cárneos.

**Palavras-chave:** Antioxidante natural, *Camellia sinensis*, conservantes naturais, extrato natural.

## ABSTRACT

PASSOS, R. S. F. T. **Effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on chicken burger quality parameters.** 2020. 67 f. M. Sc. Dissertation – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2020.

The effects of green tea extract addition on quality parameters of chicken burgers during storage for 10 days at 4°C were evaluated. Total phenolic content, total flavonoids content and antioxidant capacity through DPPH assay were performed on extracts before application on meat products. Then, chicken burgers were made and 0.5% and 1.0% green tea extract were applied to their formulations. Analyzes of cooking yield, proximate composition, lipid oxidation, pH, instrumental color, texture parameters, microbiological parameters and sensory analysis were also performed. The results showed *in vitro* antioxidant capacity of the extract used in this study, and did not change the proximate composition of the chicken burgers ( $P > 0.05$ ). It was also observed that green tea extract application reduced the lipid oxidation in both concentrations (0.05% and 1.0%) ( $P < 0.05$ ), and the pH values were lower than 6, which is indicated for this kind of meat product. The addition of green tea extract affected redness values of burgers, reduced hardness and chewiness parameters and increased cohesiveness parameter ( $P < 0.05$ ) in the treatment with 1.0% green tea extract addition. However, no antibacterial effect was observed in chicken burgers during storage time. Chicken burgers with green tea extract addition were well evaluated on sensory analysis. Regarding acceptability index, treatments with addition of tea extract had values higher than 70 %. Thus, within the experimental conditions of this study, green tea extract represents a good natural alternative for preserving meat products.

**Keywords:** *Camellia sinensis*, Natural antioxidants, Natural extracts, Natural preservatives.



## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo I – Revisão de literatura:

**Figura 1** – *Camellia sinensis* – Galhos com folhas, flores e sementes .....19

**Figura 2** – Estrutura química dos compostos de chá verde .....20

### Capítulo II – Artigo Científico:

**Figure 1**– Visual observation of different treatments of chicken burgers with green tea extracts addition in different concentrations .....63

**Figure 2** – Mesophilic bacteria, Enterobacteriaceae and Gram-positive cocci counts of chicken burgers with 0.5% (GT-0.5) and 1.0% (GT-1.0) GTE addition and control formulation (FC) without any addition, stored at 4°C for 10 days.....64

## LISTA DE TABELAS

<b>Table 1</b> – Cooking yield, proximate composition and texture properties of chicken burgers with GTE addition .....	65
<b>Table 2</b> – Lipid oxidation, pH and instrumental color parameters of chicken burgers with GTE addition during refrigerated storage .....	66
<b>Table 3</b> – Microbiological properties of chicken burgers with GTE addition during refrigerated storage .....	67
<b>Table 4</b> – Sensory analysis of chicken burgers produced with GTE addition .....	68

## LISTA DE SIGLAS

- AI – *Acceptability index* – Índice de aceitabilidade
- ANOVA – Análise de variância
- ATP – Adenosina trifosfato
- BHT – Hidroxitolueno butilado
- C – Catequina
- CG – Catequina gallato
- DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
- EC – Epicatequina
- ECG – Epicatequina gallato
- ECGC – Epigallocatequinagallato
- EGC – Epigallocatequina
- GAE – Equivalente ácido gálico
- GCG – Gallocatequinagallato
- GTE – *Green Tea Extract* – Extrato de chá verde
- MSA – Mannitol Salt Agar – Ágar Sal Mannitol
- PCA – *Plate Count Agar* – Ágar para contagem em placa
- PW – *Peptone Water* – Água Peptonada
- TAE – Equivalente ácido tânico
- TBA – *Thiobarbituric acid* – Ácido tiobarbitúrico
- TBARS – *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* – Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
- TCA – *Trichloroacetic acid* – Ácido tricloroacético
- TFC – *Total Flavonoid content* – Teor de Flavonoides totais
- TPC – *Total Phenolic content* – Teor de Fenólicos totais
- TPA – *Texture profile analyses* – Análise de perfil de textura
- TPP – Tripolifosfato de sódio
- VRGB – *Violet Red Bile Glucose Agar* – Ágar Bile Vermelho Violeta Glicose

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo geral.....	15
2.2 Objetivos específicos .....	15
CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA .....	16
1. Hambúrguer .....	16
2. Oxidação lipídica e contaminação microbiológica em produtos cárneos .....	17
3. <i>Camellia sinensis</i> e o chá verde .....	18
4. Compostos fenólicos e extratos naturais .....	19
4.1 Extração de compostos de <i>Camellia sinensis</i> .....	20
5. Uso de extrato de <i>Camellia sinensis</i> como antioxidante natural em produtos cárneos .....	24
6. Uso de extrato de <i>Camellia sinensis</i> como antimicrobiano natural em produtos cárneos .....	25
7. Alterações sensoriais causadas pela adição de extrato de <i>Camellia sinensis</i> em produtos cárneos .....	28
Referências.....	31
CAPÍTULO II – ARTIGO.....	38
Green tea extract as natural biopreservative in chicken burgers .....	39
Abstract .....	39
1. Introduction .....	40
2. Material and methods .....	41
2.1 Preparation of GTE.....	42
2.2 Total phenolics, total flavonoids and antioxidant activity .....	42
2.3 Preparation of chicken burgers .....	43
2.4 Physicochemical properties .....	44
2.4.1 Cooking yield .....	44
2.4.2 Proximate composition.....	44
2.4.3 Texture profile analysis (TPA).....	44
2.4.4 Lipid oxidation .....	45
2.4.5 pH .....	45

2.4.6 Instrumental color.....	46
2.5 Microbiological properties.....	46
2.6 Sensory analysis.....	47
2.7 Statistical analysis.....	47
3. Results and discussion .....	48
3.1 Total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity.....	48
3.2 Physicochemical properties .....	48
3.2.1 Cooking yield .....	49
3.2.2 Proximate composition of chicken burgers .....	49
3.2.3 Texture properties.....	50
3.2.4 Lipid oxidation .....	50
3.2.5 pH .....	51
3.2.6 Instrumental color.....	52
3.3 Microbiological properties.....	54
3.4 Sensory analysis.....	55
4. Conclusion .....	56
Acknowledgements .....	56
References .....	56

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre os diversos grupos alimentares, os que estão mais propensos aos processos oxidativos são aqueles que possuem muitos lipídios, principalmente os que apresentam alto grau de instauração, como carnes e seus produtos derivados (Gómez-Estaca et al., 2014). A oxidação lipídica nesses alimentos acarreta em perda de nutrientes, devido a degradação de vitaminas e ácidos graxos essenciais, além de causar alterações sensoriais repulsivas ao consumidor (Gómez, & Lorenzo, 2012). Estes produtos também estão propícios à contaminação e proliferação de microrganismos que encontram nestes alimentos um substrato ideal para crescimento, devido às suas composições nutricionais (Gómez-Estaca et al., 2014; Echegaray et al., 2018). Para combater este problema, são utilizados conservantes alimentares na elaboração e processamento de alimentos. Contudo, com a mudança de hábito de consumo da população, onde tem se exigido um produto mais natural possível, é importante para a indústria alimentícia buscar alternativas naturais para substituição de conservantes sintéticos, garantindo ainda, que os produtos comercializados tenham durabilidade e atendam as demandas dos consumidores. Neste contexto vem-se investindo em novas pesquisas, afim de se buscar alternativas mais naturais, saudáveis e eficazes para a conservação dos alimentos (Nam, Jo, & Lee, 2010).

O antioxidante alimentar pode ser definido como uma substância que é capaz de retardar ou impedir o desenvolvimento de oxidação, e conseqüentemente, as alterações causadas por esse processo, como a rancificação (Ganiari, Choulitoudi, & Oreopoulou, 2017). O BHT (Hidroxitolueno butilado) é um antioxidante sintético amplamente utilizado na indústria alimentícia por ser barato de se produzir, ser solúvel em gordura e estável em altas temperaturas. Apesar das vantagens, o uso deste e de outros antioxidantes sintéticos vem sendo questionado, já que o seu consumo em grandes quantidades pode trazer riscos para saúde, como aparecimento de tumores e doenças cardiovasculares (André, Larondelle, & Evers, 2010; Kumar, & Langoo, 2015; Gorji et al., 2016; Carocho, Morales, & Ferreira, 2018; Gómez et al., 2018). Em contrapartida, existem compostos antioxidantes naturais como os polifenóis, fenóis, vitaminas, betacaroteno, aminas e aminoácidos (Nirmala et al., 2018). Essas substâncias costumam ser incorporadas à dieta da população através de vegetais, cereais, mel, chocolate e legumes. Pesquisas vem demonstrando que estas substâncias naturais estabilizam os radicais livres, impedindo

processos oxidativos em alimentos (Scalbert, Johnson, & Saltmarsh, 2005; Badolato et al., 2017; Carocho, Morales, & Ferreira, 2018; Araújo et al., 2019; Imran et al., 2019).

As plantas podem possuir compostos fenólicos com capacidade antibacteriana, como carvacol, eugenol e tymol que vêm sendo estudadas como alternativas para aumentar o tempo de prateleira de vários alimentos e impedir a proliferação bacteriana (Zapata-Álvarez, Mejía, & Restrepo-Molina, 2019). Dentre as plantas estudadas atualmente, *Camellia sinensis* se destaca por apresentar altas concentrações de compostos de interesse para conservação de produtos cárneos tanto no aspecto antioxidante quanto no aspecto antimicrobiano.

A *Camellia sinensis* é um arbusto ou árvore de pequeno porte possui origem asiática e pertence à família Theacea (Duarte & Menarim, 2006; Mahmood, Akhtar, & Khan, 2010). Apesar de ser cultivada a nível global, sabe-se que essa planta se desenvolve melhor em climas tropicais e subtropicais, com umidade alta, grandes concentrações anuais de chuva e solo ácido (Anesini, Ferraro, & Filip, 2008; Mahmood, Akhtar, & Khan, 2010; Ho, Zeng, & Li, 2015). Diferentes tipos de chás podem ser produzidos de acordo com o tratamento que as folhas e brotos passam. Para a produção do chá verde, uma das bebidas mais consumidas no mundo, as folhas são colhidas, secadas, enroladas e aquecidas rapidamente para prevenir a degradação enzimática e a perda de compostos antioxidantes (Komes et al., 2010; Nishiyama et al., 2010). A adição de extrato de chá verde em produtos cárneos já vem sendo relatada com resultados promissores, aumentando o tempo de prateleira destes alimentos (Price et al., 2013; Pateiro et al., 2014; Soncu, & Kolsarici, 2017; Bellés et al., 2019), contudo, poucos estudos abordam o processo de extração.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Obter extratos de chá verde e verificar a viabilidade do seu uso na formulação de hambúrgueres de carne de frango.

### 2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver extratos de chá verde (*Camellia sinensis*) utilizando água e etanol (álcool de cereais) como solventes e aplicando diferentes tempos e temperaturas para extração;
- Determinar compostos fenólicos e flavonoides totais dos extratos de chá verde (*Camellia sinensis*) e avaliar atividade antioxidante *in vitro* do extrato que possuir maior teor total destes compostos;
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) em diferentes concentrações na estabilidade oxidativa de hambúrguer de carne de frango;
- Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) em diferentes concentrações na estabilidade microbiana de hambúrguer de carne de frango;
- Verificar o efeito do extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) sobre as características físico-químicas e sensoriais de hambúrguer de carne de frango.



## **CAPITULO I**

### **REVISÃO DE LITERATURA**

#### **1. Hambúrguer**

Entre os alimentos preparados, os produtos cárneos tem o consumo amplamente difundido, sendo encontrados facilmente em supermercados e feiras livres. Por sua variedade, praticidade e preço acessível, esses produtos se tornaram uma opção crescente nas escolhas dos consumidores brasileiros (Oliveira et al., 2013). Produtos cárneos são todos aqueles obtidos de carne, de miúdos e de partes comestíveis das diferentes espécies animais, onde as características originais das matérias-primas são modificadas por meio de tratamento físico, químico ou biológico, ou através da combinação destes métodos, em processos que podem envolver a adição de ingredientes, aditivos ou coadjuvantes de tecnologia. Alguns dos produtos cárneos são salsichas, linguiças, salames, mortadelas, almôndegas, chouriços e hambúrgueres (Brasil, 2017).

Dentre os produtos cárneos, o hambúrguer é uma opção que atinge diversos segmentos da sociedade. Seu consumo está associado à sua praticidade e às suas características sensoriais, que possuem grande aceitabilidade por parte de pessoas de diferentes faixas etárias. Assim, este alimento atrai muitos consumidores em supermercados, em redes de fast-food e restaurantes de todo o mundo. Uma única rede de fast-food vende anualmente cerca de 100 bilhões desse produto mundialmente, com uma taxa de produção de 75 hambúrgueres por segundo (Spencer; Frank, & McIntosh, 2005; Prado et al., 2019).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, o hambúrguer caracteriza-se como um produto cárneo industrializado obtido da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado. É classificado e comercializado como um produto cru, semi-frito, cozido, frito, congelado ou resfriado, tendo que por obrigatoriedade respeitar o limite mínimo de 15% de proteína e o limite máximo de 23% de gordura em sua composição. Ainda, deve ter textura, cor, sabor e odor característicos. Podem ser adicionados também ingredientes opcionais como gordura vegetal, água, sal, outras proteínas de origem animal e/ou vegetais, leite em pó, açúcares, maltodextrina, aditivos intencionais, condimentos, aroma e especiarias, além de vegetais, queijos e outros recheios (Brasil, 2000).

O hambúrguer de frango é uma alternativa bem aceita ao hambúrguer convencional de carne bovina. Seu consumo é bastante popular por dois motivos: a carne de frango é mais barata quando comparada a carne bovina e possui características nutricionais importantes para o consumidor como baixo teor lipídico e alta concentração de ácidos graxos poli-insaturados, quando comparada à carne vermelha (Longato et al., 2017). Assim, para acompanhar a demanda do mercado por produtos que não sejam apenas saudáveis e nutritivos, mas também agreguem benefícios ao consumidor, vem-se pesquisando a adição de extratos e outros compostos naturais em produtos cárneos, sobretudo em hambúrgueres de frango (Carvalho et al., 2019). Esses aditivos naturais podem incrementar o sabor do alimento, enriquecer nutricionalmente o produto e também atuar como conservantes naturais.

## **2. Oxidação lipídica e contaminação microbiológica em produtos cárneos**

Diversos fatores influenciam o processo de oxidação em produtos cárneos como a presença de agentes pró-oxidantes como a mioglobina presente nos músculos, composição proteica e composição de ácidos graxos (Ribeiro, et al., 2019). Além disso, os processamentos tecnológicos do alimento, como a moagem, cozimento ou armazenamento, podem favorecer que os agentes pró-oxidantes tenham contato com as suas moléculas alvos, desencadeando reações químicas oxidativas. Assim, este processo irá influenciar negativamente nas características sensoriais dos produtos, como o aparecimento de sabor rançoso (Gray & Monahan, 1992; Guyon, Meynier, & Lamballerie, 2016).

A oxidação lipídica acontece em três fases: iniciação, propagação e terminação. Na primeira etapa, átomos de oxigênio ativados irão reagir com o ácido graxo insaturado iniciando assim a reação de oxidação. A segunda fase, a da propagação, é caracterizada por reações que só terminam quando estiverem esgotadas as reservas de ácidos graxos insaturados e oxigênio. Os peróxidos formados nesta fase servem de índice de oxidação lipídica em alimentos. As reações de terminação são caracterizadas pela formação de produtos finais ou não-reativos como álcoois, aldeídos, cetonas e outros hidrocarbonetos (Ferrari, 1998; Caroch, Morales, & Ferreira, 2018).

Outro tipo de deterioração em alimentos é causado por microrganismos como bactérias e fungos. Estes podem ainda acarretar em doenças veiculadas por alimentos que são importantes para a saúde pública (Franz, et al., 2018). Bactérias com potencial

patogênico como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* já foram isoladas de carne (Norrung, & Buncic, 2008; Tafida et al, 2013; Silva et al., 2014; Atnafie et al., 2017). Esta contaminação pode ser proveniente de uma variedade de irregularidades durante o abate (como uso de utensílios contaminados ou esfolagem e evisceração incorretas), processamento (falhas nas boas práticas de higiene dos manipuladores), transporte ou armazenamento inadequado do alimento já expostos para venda (Norrung, & Buncic, 2008; Tafida et al., 2013).

### **3. *Camellia sinensis* e o chá verde**

Os chás são muito utilizados pela medicina alternativa por possuírem propriedades benéficas à saúde, dentre estes, destaca-se os chás verde, branco e preto, que são obtidos através das folhas da *Camellia sinensis*. Membro da família theaceae, *Camellia sinensis* (Figura 1) é um arbusto de altura entre 0,6 m e 1,5 m, que produz folhas verde-claras, de margem serrilhada, com cerca de 4 cm de largura (Mahmood, Akhtar, & Khan, 2010). Apesar de ser cultivada a nível global, sabe-se que essa planta se desenvolve melhor em climas tropicais e subtropicais, com umidade alta, grandes concentrações anuais de chuva e solo ácido (Anesini, Ferraro, & Filip, 2008; Mahmood, Akhtar, & Khan, 2010; Ho, Zeng, & Li, 2015). No Brasil, a planta se desenvolve bem devido as condições climáticas e de solos (Nishiyama et al., 2010). O tipo de chá obtido dependerá do processamento dado às folhas da planta. O chá verde é produzido pelas folhas maduras, recém coletadas e não fermentadas. Essas folhas são aquecidas, desativando enzimas pró-oxidantes, tendo a clorofila (responsável pela coloração característica do produto) e os demais componentes do chá, como compostos fenólicos, conservados. Para a produção do chá branco, são utilizados brotos e folhas novas, mas com processo similar ao do chá verde. Já o chá preto, é produzido através da oxidação e fermentação prolongada das folhas maduras (Duarte & Menarim, 2006; Nishiyama et al., 2010).

Apesar de ter origem asiática, se observa que seu consumo se difundiu em outras partes do mundo, sendo o consumo de chá verde superior nos países orientais enquanto o consumo de chá preto é maior nos países ocidentais (Nishiyama et al., 2010). Existem outras variações de chás produzidos a partir da *Camellia sinensis* como o chá amarelo (Horžić et al., 2012), o Oolong (Sun et al., 2018) e o chá vermelho (Granato et al., 2014).

**Figura 1** – *Camellia sinensis* - Galhos com folhas, flores e sementes.



Fonte: Página de *Camellia sinensis* na Wikipedia<sup>1</sup>

#### 4. Compostos fenólicos e extratos naturais

As fontes vegetais e os resíduos agroindustriais representam uma fonte importante de compostos de interesse, como os fenólicos (ou polifenóis), que possuem ampla utilidade para a indústria farmacêutica e de alimentos, por exemplo (Medina-Torres et al., 2017). Esses compostos (Figura 2) podem ser encontrados em diversas fontes como cereais: milho, arroz, cevada, centeio e aveia, frutas e vegetais como maçã, laranja, ameixa, uva, abacaxi, alecrim, café e na própria *Camellia sinensis* (Goodman et al., 2013; Shahidi, & Ambigaipalan, 2015; Gutiérrez-Grijalva et al., 2016).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas e vegetais derivados de fenilalanina e tirosina (Soto-Vaca et al., 2012). Sabe-se ainda que estes compostos apresentam benefícios a saúde, devido principalmente à sua capacidade antioxidante (Ranilla et al., 2010). Na indústria de alimentos, sobretudo, esses polifenóis são utilizados na forma de extrato, principalmente na aplicação em outros alimentos.

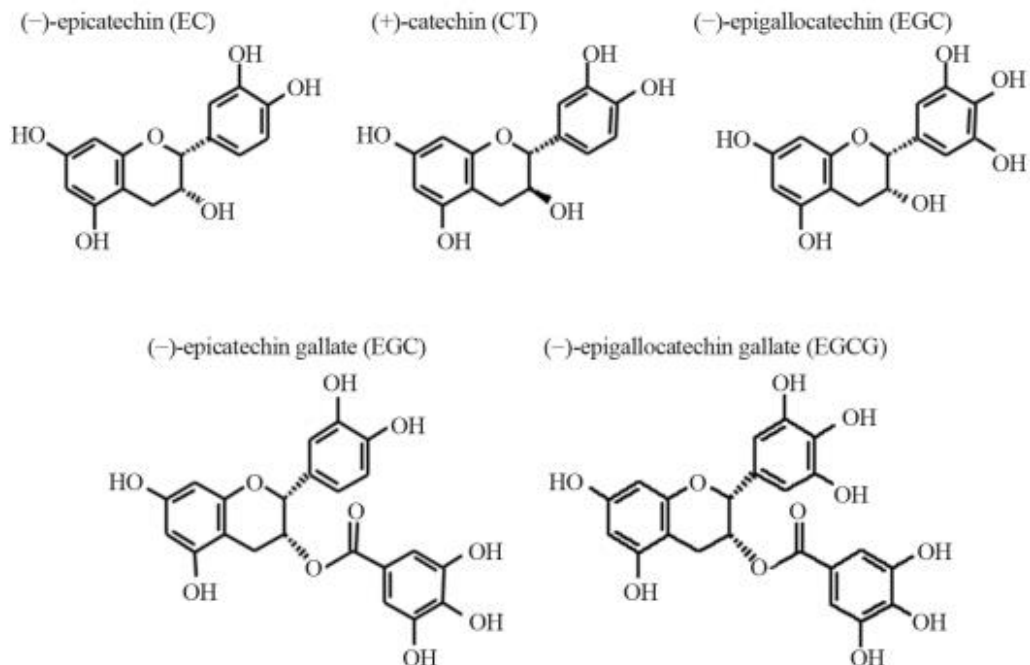
Ainda, segundo Zhao e colaboradores (2019), dentre os tipos de chá elaborados a partir de *Camellia sinensis*, o chá verde apresenta o maior teor de compostos fenólicos, seguido do chá amarelo, oolong, chá preto e chá branco. No mesmo trabalho, 16 compostos fenólicos foram isolados dos tipos diferentes de chá, sendo 8 catequinas, 3 ácidos fenólicos, 2 flavonóides, 2 flavonóides glicosídeos e teaflavina. As catequinas

---

<sup>1</sup> Disponível em: < [https://pt.wikipedia.org/wiki/Camellia\\_sinensis](https://pt.wikipedia.org/wiki/Camellia_sinensis)>. Acesso em: 27 ago. 2020.

representam 30% do peso de matéria seca nas folhas de *Camellia sinensis*, sendo a ECGC o maior componente fenólico do chá verde (Pérez-Burrillo et al., 2018).

**Figura 2** – Estrutura química dos compostos fenólicos de chá verde.



Fonte: Goodman et al. (2013)

Entende-se por extrato vegetal as preparações líquidas ou em pó obtidas através da retirada dos princípios ativos de plantas, por diferentes metodologias. O uso desses extratos é uma das formas mais antigas da prática da medicina, que ainda hoje é muito exercida, principalmente por povos orientais (Marques, 2005; Veiga Júnior; Pinto, & Maciel, 2005; Sagar et al., 2018).

#### 4.1 Extração de compostos de *Camellia sinensis*

A extração de compostos bioativos a partir de fontes naturais é de extrema importância quando o objetivo é sua aplicação em alimentos em geral. Desta forma, diversas técnicas utilizando solventes (água, etanol e/ou metanol), temperaturas (entre 30 °C e 100 °C) e equipamentos (banho maria, agitador magnético, rotoevaporador, ultrassom e micro-ondas) podem ser utilizados (Mbata, Debiao, & Saikia, 2008; Spigno, & De Faveri, 2009; Horžić et al., 2012; Lorenzo et al., 2014; Pateiro et al., 2014; Jayawardana et al., 2019). Assim, a extração de compostos bioativos a partir de vegetais

e outras fontes naturais vem sendo bastante estudada nos últimos anos. O uso de vegetais e solventes orgânicos é um dos princípios da “*Green Extraction*” (extração utilizando recursos renováveis), justificando assim o interesse crescente por pesquisas na área nos últimos anos (Chemat, Vain, & Cravotto, 2012; Panic et al., 2019).

Diferentes metodologias são utilizadas visando maximizar a extração de compostos da *Camellia sinensis*. Já foi demonstrado que extrações prolongadas a altas temperaturas (100 °C/2 horas) ocasiona degradação das biomoléculas do chá (Banerjee, & Chatterjee, 2015). Assim, é importante ajustar o binômio tempo/temperatura para que o extrato obtido possua concentrações de polifenóis capazes de exercer ação antioxidante e antimicrobiana (Saeed et al., 2017).

Além da extração convencional, método considerado antigo, realizado com o uso de solventes e altamente dependente de tratamento térmico, novas tecnologias vêm sendo empregadas como o uso de ultrassom, micro-ondas e extração com fluido supercrítico. Essas técnicas se enquadram no princípio da “*Green Extraction*” por serem sustentáveis e são caracterizadas por taxas de extração mais rápidas, uso de menores quantidades de solventes, menor consumo de energia e um produto de melhor qualidade (Hu et al., 2019).

A extração com auxílio de ultrassom é baseada no mecanismo de propagação de ondas de pressão do ultrassom dentro do meio, seguido da formação de bolhas de cavitação por pressão negativa. As bolhas implodem dentro das células vegetais, causando micro turbulências e rompendo a membrana celular. Assim, é acelerada a dissolução do solvente e a extração das biomoléculas (Banerjee, & Chatterjee, 2015). Uma boa performance de extração de fenólicos de *Camellia sinensis* foi observada com o uso de ultrassom combinado com etanol 75% (Horžić et al., 2012). Neste trabalho, os pesquisadores conseguiram extrair flavonoides na concentração de 2957,73 mg/L equivalente de GAE no extrato obtido através de extração durante 30 minutos. Este método apresenta vantagens em relação a temperatura de extração, pois quando se utiliza técnicas convencionais com uso de calor, extração por tempo prolongado em altas temperaturas não são eficientes (Banerjee, & Chatterjee, 2015).

A extração realizada com o auxílio de micro-ondas vem sendo bastante utilizada em materiais vegetais. A onda eletromagnética emitida, quando penetra a biomassa do material a ser extraído, eleva drasticamente a temperatura causando vaporização no interior da célula e a destruição da sua membrana, facilitando a permeabilidade do solvente. Contudo, o calor gerado pelo processo pode acarretar em degradação dos compostos fenólicos (Banerjee, & Chatterjee, 2015; Roohinejad et al., 2016). Além disso,

foi mostrado em estudo que a extração utilizando micro-ondas caseiro não alterou a atividade antioxidante dos compostos extraídos de chá verde (Spigno, & De Faveri, 2009), representando assim uma alternativa acessível e eficaz para extração.

A extração com fluido supercrítico vem se tornando uma técnica popular, limpa e segura para extração de compostos para a indústria alimentícia. Este método utiliza alta pressão e fluídos supercríticos como solventes de extração (Banerjee, & Chatterjee, 2015). A técnica já foi utilizada para extração de catequinas de chá e pode ser empregada para extrações industriais (Sökmen, Demir, & Alomar, 2018). Porém, ainda são necessários mais estudos onde estes extratos são aplicados a produtos cárneos.

Alguns trabalhos revelam que diversas partes de vegetais (folhas, caules, galhos, raízes, flores e frutos) podem apresentar biomoléculas de interesse para a indústria (Lorenzo et al., 2018; Soriano et al., 2018; Firuzi et al., 2019; Gostin & Waisundara, 2019; Mattje et al., 2019). Em relação a *Camellia sinensis*, saponinas extraídas de suas raízes já apresentaram potencial anti-inflamatório, analgésico e antioxidante (Chattopadhyay et al., 2004). Extrato etanólico obtido da casca da semente de chá verde também apresentou atividade antioxidante (Sung et al., 2016). Em outro estudo, o caule de *Camellia sinensis* (quando extraídos com acetona, etanol, metanol e água) apresentou atividade antibacteriana maior que as folhas e raízes, enquanto o extrato das raízes da planta, elaborado com n-hexano, apresentou atividade antioxidante maior que os outros componentes (Shah et al., 2018). As flores de *Camellia sinensis* também já foram estudadas. Lin e colaboradores (2003) verificaram que as flores da planta apresentam quantidades de catequinas e cafeína muito próximas às encontradas nas folhas. Assim, resíduos da produção de chá verde podem ser aproveitados na elaboração de aditivos para a indústria alimentícia, favorecendo pequenos e médios produtores. Contudo, atualmente a maioria dos trabalhos com extração e aplicação de *Camellia sinensis* usa as folhas como biomassa.

Para se realizar a extração, é necessário o uso de solventes. Água é um solvente amplamente utilizado para extração, mas os resultados produzidos costumam ser menores que os resultados obtidos por etanol ou metanol. Como o etanol e metanol são menos polares que a água, conseqüentemente são mais eficientes na degradação da parede celular das folhas e sementes. Ainda, comparando o etanol e o metanol, a diferença de compostos extraídos pelos dois é pequena, mas para o uso na indústria de alimentos o etanol é uma melhor opção (Lapornik, Prošek, & Wondra, 2005). Outros autores relatam que etanol tem sido um solvente eficiente na extração de polifenóis em chá verde e outras plantas

medicinais, exibindo resultados melhores em relação a atividades antioxidante e antibacteriana (Rusak et al., 2008; Patra et al., 2018).

O método de infusão das folhas no meio extrator também foi discutido (Xi, Liu, & Su, 2012). Foi observado que mergulhar as folhas em água fervente por determinado período (“*Boiling method*”) extraiu mais compostos que deixar as folhas de chá maceradas, em infusão de água quente (“*Steeping method*”). É importante salientar que, neste estudo, a extração não durou mais que 15 minutos, devido as altas temperaturas utilizadas nos processos.

Para o uso em embutidos suínos não-curados, chá verde e chá preto foram extraídos utilizando-se água como solvente, na concentração 1:10 g/mL, por 5 minutos em água fervente. Neste estudo, como a temperatura de extração foi alta, o tempo do processo foi menor para manter a qualidade final do produto. Após a extração, observou-se que a proporção total de polifenóis foi de 30,01% e 42,41% para os extratos de chá preto e verde, respectivamente. Ainda no mesmo estudo, as análises de DPPH demonstraram que o extrato de chá verde apresentou capacidade antioxidante *in vitro* significativamente maior que a do extrato de chá preto (Jayawardana et al., 2019). Esses resultados podem ser justificados devido ao tratamento de fermentação que as folhas de *Camellia sinensis* sofrem para a produção do chá preto, ocasionando assim em perdas de compostos fenólicos. Em outro estudo, extrato comercial de *Camellia sinensis* foi preparado com água destilada. Em relação ao total de polifenóis, o extrato apresentou concentração de fenólicos totais de  $66,0 \pm 2,11$  mg TAE/g do extrato em pó. Esse resultado foi superior ao extrato de *Aloe vera* ( $1,9 \pm 0,03$  mg TAE/g), pesquisado no mesmo estudo (Kumar, & Langoo, 2015). Comparando chá verde com carvacrol, fenólico de origem no orégano, o extrato de *Camellis sinensis* apresentou concentração de compostos fenólicos de  $108,25 \pm 3,2$  mg GAE/g enquanto o Carvacrol apresentou  $77,78 \pm 2,8$  mg GAE/g, mostrando que mesmo dentre os extratos vegetais, o chá verde tem funcionalidade destacada (Bellés et al., 2019).

Após extração de chá verde com etanol a 70%, uma concentração de  $390,9 \pm 8,6$  mg GAE/g foi obtida (Pateiro et al., 2014; Lorenzo et al., 2014). Outros trabalhos também mostram a extração de *Camellia sinensis* utilizando-se etanol como solvente e com aplicabilidade em alimentos. Os resultados de compostos fenólicos e flavonoides, assim como DPPH, de extratos alcoólicos, mostraram resultados superiores aos extratos onde água foi o solvente principal (Nirmal, & Benjakul, 2011a; Nirmal, & Benjakul, 2011b). Foi encontrado também nos extratos testados a presença de catequina, CG, EC, ECG,



EGC, EGCG e GCG. A presença desses compostos não varia de acordo com o solvente utilizado, apenas a sua concentração. Nos extratos alcóolicos, a concentração destes compostos foi maior, e estes resultados evidenciam as propriedades antioxidantes de *Camellia sinensis* (Nirmal, & Benjakul, 2011a; Nirmal, & Benjakul, 2011b; Soncu, & Kolsarici, 2017; Shtay et al., 2019).

## **5. Uso de extrato de *Camellia sinensis* como antioxidante natural em produtos cárneos**

No passado, substâncias sintéticas com capacidade antioxidante, como o BHT, eram comumente utilizadas em alimentos. Porém, estudos demonstram que o uso excessivo destes compostos químicos pode produzir substâncias tóxicas que são prejudiciais à saúde. O uso de grandes concentrações desses aditivos foi associado, em ratos, ao desenvolvimento de câncer (André, Larondelle, & Evers, 2010; Kumar & Langoo, 2015).

As propriedades antioxidantes de chá verde vêm sendo relatadas na literatura. O grupo hidroxila, presente nos polifenóis do chá, pode interromper a cadeia de oxidação lipídica, no estágio de propagação, através da doação de átomos de hidrogênio que vão estabilizar os radicais livres (Sundararajan et al., 2011).

A adição direta de extratos e catequinas de chá verde vem sendo estudada e apresenta resultados positivos em relação ao prolongamento do tempo de prateleira, retardação de processos oxidativos e redução na formação de compostos como aminas biogênicas e acrilamida (Jongberg et al., 2013; Price et al., 2013; Kumar & Langoo, 2015; Wang et al., 2015; Soncu & Kolsarici, 2017; Jayawardana et al., 2019). Contudo, apesar dos inúmeros benefícios, quando aplicado em emulsão de carne, observou-se que apesar do efeito do extrato ser dose dependente em relação à atividade antioxidante, a sua adição em altas concentrações pode interferir nas características emulsificantes da emulsão (Jongberg et al., 2015).

A adição direta de extrato de chá verde combinado com outros extratos naturais também vem demonstrando resultados positivos. Em hambúrguer de carne de cordeiro, o extrato de chá verde associado ao carvacrol reduziu a oxidação lipídica. A combinação dos dois extratos se mostrou eficiente, devido a atividade antioxidante e antimicrobiana das duas fontes vegetais (Bellés et al., 2019). Em linguiça suína frescal, a combinação de diferentes concentrações de extrato de chá verde com extrato de alecrim suprimiu a

oxidação lipídica do produto. Sabe-se que, isoladamente, o extrato de alecrim já demonstrou atividade antioxidante em produtos cárneos, assim como o extrato de *Camellia sinensis*. Portanto, o sinergismo dos dois extratos é um fator importante a ser considerado na adição em produtos (Schilling et al., 2018).

Quando comparados aos antioxidantes sintéticos, como BHT, o extrato de chá verde apresenta resultados que sugerem substituição total ou parcial dos produtos sintéticos por extratos vegetais. Em hambúrguer de carne suína, a adição do extrato de *Camellia sinensis* (1000 mg/kg) foi capaz de estender a vida de prateleira dos produtos em 20 dias sob refrigeração, apresentando ainda resultado melhor que o BHT (50 mg/kg) (Lorenzo et al., 2014). Em patê de fígado suíno, a adição do extrato de chá verde (1000 mg/kg) apresentou resultados melhores que os obtidos pelo conservante sintético BHT quando utilizado na concentração de 200 mg/kg (Pateiro et al., 2014).

A adição de extrato de chá verde como antioxidante vem sendo utilizada também em outros alimentos de origem animal, como pescados. Para o controle de oxidação lipídica em peixes “*Red drum*”, cobertura de quitosana suplementada com polifenóis previamente isolados de chá verde foi capaz de reduzir os valores de TBARS de 0,992 para 0,252 mg de malonaldeído por kg de amostra (MDA/kg) ao longo de 20 dias de armazenamento em refrigeração (Li et al., 2013). Em camarões, a aplicação de extrato de chá verde de forma direta e combinada com tecnologias de armazenamento sob atmosfera modificada foi capaz de reduzir a oxidação lipídica ao longo de 10 dias de armazenamento (Nirmal, & Benjakul, 2011a; Nirmal, & Benjakul, 2011b). A retardação da oxidação lipídica nos camarões tratados com extrato de chá verde é atribuída a capacidade de eliminação dos radicais livres que o extrato possui. Além disso, o extrato de chá verde pode atuar como quelante dos íons metálicos pró-oxidantes presentes nos músculos do camarão e como resultado, o estágio de propagação da oxidação é impedido e o aparecimento de sabor rançoso no alimento é prevenido (Nirmal, & Benjakul, 2011b).

## **6. Uso de extrato de *Camellia sinensis* como antimicrobiano natural em produtos cárneos**

Além dos microrganismos deterioradores, os alimentos podem ser contaminados por microrganismos patogênicos, como *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* enteropatogênicas (Rohde et al., 2017; Franz et al., 2018). Os principais alimentos envolvidos nos casos de doenças veiculadas por alimentos são os de origem animal, como

pescados (crustáceos, peixes, moluscos e seus derivados), carnes de aves e carne vermelha (Franz et al., 2018). Sabe-se também que a contaminação dos alimentos por microrganismos acarreta em perdas e prejuízos econômicos, principalmente para países em desenvolvimento (Lung et al., 2015). Assim, evidencia-se a importância de um rigoroso controle em relação a qualidade microbiológica de alimentos.

Substâncias sintéticas como nitratos, benzoatos, sulfitos, sorbatos, propionatos e formaldeídos são utilizadas, na forma de ácidos orgânicos fracos ou sais, em alimentos para impedir ou combater o crescimento microbiológico. Contudo, sabe-se que essas substâncias podem apresentar efeitos adversos para o consumidor (Fu et al., 2016; Quinto et al., 2019). Dentre os 36 antimicrobianos aprovados para o uso em alimentos pela *European Food Safety Authority*, 33 deles são de origem sintética (Fu et al., 2016). O uso de sulfito, por exemplo, costuma ser empregado para o controle microbiológico em embutidos (Lung et al., 2015; Alirezalu et al., 2019; Bellés et al., 2019;). Entretanto, à medida que o hábito de consumo da população muda, o uso dessas substâncias sintéticas vem sendo discutido. Na União Europeia o sulfito tem seu uso restrito a concentração máxima de 450 mg/kg (Bellés et al., 2019).

Vegetais, ervas, hortaliças, temperos e especiarias são pesquisados como fontes de substâncias antimicrobianas de importância para indústria de alimentos. Já foi observada a ação antibacteriana de extratos naturais de amora, kimchi, alecrim, tomate, aipo, folhas de oliva e carvalho, incorporados em alimentos cárneos ou testados *in vitro* (Jin, et al., 2018; Shalaby, Anwar, & Sallam, 2018; Soriano et al., 2018; Lee, et al., 2019; Ruíz-Cruz, et al., 2019; ; Tamkuté et al., 2019; Zapata-Álvarez, Mejía, & Restrepo-Molina, 2019). Sabe-se que a *Camellia sinensis* age na estrutura celular de *E. coli* resistente a carbapenem, rompendo a membrana das células, levando assim a deformação da bactéria e, posteriormente, à apoptose (Thakur et al., 2016). Em outro trabalho, foi avaliada a atividade antibacteriana *in vitro* de extrato de *Camellia sinensis* preparado com clorofórmio: metanol (1:1), que se mostrou capaz de inibir o crescimento de *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa* na concentração de 12,5 mg/mL e *Staphylococcus aureus* na concentração de 6.25 mg/mL (Gupta & Kumar, 2017). Testes *in vitro* também mostraram que solução de cobertura comestível contendo 1% de extrato de chá verde inibiu com mais eficiência as bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Listeria monocytogenes*) que as Gram-negativas (*E. coli* e *Salmonella entérica*), possivelmente devido a presença da membrana extra de lipopolissacarídeos que as

bactérias Gram-negativas possuem e que funciona como uma barreira de permeabilidade contra macromoléculas dos extratos (Chiu, & Lai, 2010).

Ainda, além do uso isoladamente de extratos de *Camellia sinensis* em produtos cárneos, pode-se utilizá-lo em associação com outros extratos para potencializar seus efeitos. De acordo com Bellés et al. (2019), o uso de extrato de chá verde e extrato de chá verde associado com carvacrol em hambúrgueres de carne de cordeiro sem adição de sulfitos. Neste estudo, mostra-se que a concentração de chá utilizada no trabalho (300 ppm), sem associação com carvacrol não foi suficiente para exercer algum efeito antibacteriano. Sobretudo, ainda no mesmo estudo, quando combinados a diferentes concentrações de carvacrol, o extrato de *Camellia sinensis* apresentou resultados promissores, reduzindo o crescimento de *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* spp. e de bactérias da família Enterobacteriaceae. O carvacrol já possui mecanismo antibacteriano elucidado, diminuindo o teor de ATP intracelular e aumentando simultaneamente o ATP extracelular, indicando ação deste composto para a membrana citoplasmática (Souza et al., 2005). Utilizado em conjunto com alecrim, *Camellia sinensis* reduziu a contagem de bactérias psicotróficas em linguça frescal suína (Schilling et al., 2018).

Quando adicionados em emulsão de carne, o extrato de chá verde foi eficaz em reduzir as contagens totais em placa, contagens de bactérias da família Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* spp., bactérias ácido-láticas, bolores e leveduras (Kumar, & Langoo, 2015). Em hambúrguer suíno embalado em atmosfera modificada, o extrato de *Camellia sinensis* apresentou menores contagens de *Pseudomonas* spp., bactérias ácido-láticas, bactérias psicotróficas e de mesófilos totais, quando comparado a extratos de alga marinha e castanha, e ao BHT (Lorenzo et al., 2014). Os compostos fenólicos do chá também foram efetivos na redução da contagem total de bactérias aeróbias mesófilas, bactérias das famílias Enterobacteriaceae e Micrococcaceae, bolores e leveduras em bacon (Wang et al., 2015).

Além da adição direta como ingrediente na formulação de produtos cárneos, o extrato de chá verde como antimicrobiano natural pode ser incorporado como cobertura comestível para alimentos prontos para consumo. Chiu & Lai (2010) utilizaram 1% de extrato de chá verde, aplicado em cobertura comestível à base de tapioca, em carne suína pronta para consumo e observaram que houve uma redução na contagem de *Bacillus cereus* em relação aos cortes sem a utilização de extrato de chá verde como aditivo para a cobertura. Quando aplicado em pescados (camarão e ostras), o extrato de *Camellia*

*sinensis* se mostrou eficaz no controle de *Vibrio parahaemolyticus* (Nirmal, & Benjakul, 2011a; Nirmal, & Benjakul, 2011b; Xi, Liu, & Su, 2012).

Contudo, apesar de resultados positivos do extrato de chá verde como agente antibacteriano em produtos cárneos, no estudo realizado por Price e colaboradores (2013), não foi detectada nenhuma atividade antibacteriana do extrato de chá verde em almondegas de carne suína, quando aplicado na concentração de 300 mg de extrato para 1 kg de carne.

Em relação às doses dos extratos utilizados como antimicrobianos naturais em produtos cárneos, não houve diferença estatística entre dois tratamentos de hambúrguer bovino contendo solução de extrato de chá verde encapsulado (quitosana + 0,5% de extrato de chá verde + TPP) em 1% e 5% para bactérias do grupo dos coliformes, analisados ao longo de 8 dias em armazenamento por 4 °C (Özvural, Huang, & Chikindas, 2016). Utilizando-se 0,3 mg (300 ppm) de extrato de chá verde em hambúrguer de carne de cordeiro, não foi observada atividade antibacteriana (Bellés et al., 2019). Já o extrato utilizado na concentração de 1000 mg por 1 kg de carne demonstrou capacidade antimicrobiana, aumentando o tempo de prateleira de hambúrguer suíno (Lorenzo et al., 2014). Analisando os resultados, afirma-se que a atividade antimicrobiana de extrato de chá verde está associada à sua dosagem, e que quando é associado a outros extratos vegetais, baixas concentrações de *Camellia sinensis* podem exibir efeitos antibacterianos.

## **7. Alterações sensoriais causadas pela adição de extrato de *Camellia sinensis* em produtos cárneos.**

A aceitação global dos chás elaborados a partir da *Camellia sinensis* se deve ao sabor, efeitos levemente energéticos, propriedades nutricionais e terapêuticas. Tais características favorecem o interesse do consumidor e a sua incorporação na dieta da população (Dai et al., 2017; Ho, Zheng, & Li, 2015). Durante os processos de extração, alguns componentes fortemente relacionados às características sensoriais dos chás são obtidos, como aminoácidos, pentanal e epigallocatequina galato (Wang, & Ruan, 2009; Nirmal, & Benjakul, 2011a; Nirmal, & Benjakul, 2011b;). Assim, ao serem incorporados em alimentos, espera-se que alterações a nível de sabor, aroma e cor aconteçam.

Estudos mostram que o extrato de chá verde quando combinados com outros extratos naturais, como alecrim, promovem retardamento no processo de descoloração, apesar de não serem efetivos na inibição de perda de tom de vermelho em linguiça suína

frescal (Schilling et al., 2018). A manutenção da cor vermelha é importante, sobretudo em produtos cárneos, no que se refere a aceitação do consumidor, pois estes associam os tons de vermelho com qualidade, e a perda desta coloração resulta em um alimento com cor marrom/esverdeada, repulsiva para os consumidores. A formação de um pigmento chamado metamioglobina é responsável pelo tom marrom na carne ao longo dos dias de armazenamento. Em hambúrguer bovino, a formação deste composto já foi inibida pelo uso de catequinas de chá verde isoladas (Polifenóis 98% e catequinas 90%) (Liu et al., 2015). Alterações na coloração do produto também estão associadas como resultado de processos oxidativos, portanto os extratos que são capazes de inibir a formação de produtos oxidativos primários e secundários, podem inibir também a formação de metamioglobina e ajudar na manutenção dos tons de vermelho (Schilling et al., 2018). Em camarões, a adição do extrato de chá reduziu a formação de melanose, alteração de cor comum neste tipo de alimento que também é uma característica repulsiva aos consumidores (Nirmal, & Benjakul, 2011a; Nirmal, & Benjakul, 2011b).

Estudos indicam que a adição dos extratos não acarretou em qualquer aroma característico da *Camellia sinensis* e sabor adstringente ou amargo provenientes dos chás, mesmo quando estes foram utilizados em altas concentrações (Schilling et al., 2018; Jayawardana et al., 2019). Quando adicionados em camarões, o extrato de chá verde também não provocou alterações sensoriais detectáveis por avaliadores (Nirmal, & Benjakul, 2011a; Nirmal, & Benjakul, 2011b). Em peixes, a associação de quitosana e polifenóis isolados de chá verde apresentou resultados superiores às mudanças de pontuação na análise sensorial e nos parâmetros de dureza em relação a combinação de extrato de semente de uva e quitosana (Li et al., 2013). Contudo, estudos ainda são necessários em relação as alterações que *Camellia sinensis* pode causar em ostras (Xi et al., 2012) e em outros frutos do mar.

Em relação aos produtos elaborados com carne, a adição do extrato de chá verde não modificou atributos sensoriais além da coloração em almondegas (Price et al., 2013), assim como em mortadela tipo Bologna, onde a adição de extrato de chá verde manteve as características de sabor do produto, e interferindo, contudo, na textura, deixando-a mais consistente, macia e uniforme, segundo os critérios de avaliação (Jongberg et al., 2013). *Nuggets* e hambúrgueres de frango com extrato de chá verde em sua formulação também obtiveram parâmetros sensoriais aceitáveis (Soncu, & Kolsarici, 2017). Em embutido suíno não-curado, a adição de 0,05% de extrato de chá preto e adição de 0,05% de extrato

de chá verde como conservantes naturais puderam ser utilizadas sem nenhum efeito adverso nas características sensoriais do produto (Jayawardana et al., 2019).

O crescimento de microrganismos e ocorrência de reações químicas como oxidação lipídica e proteica alteram parâmetros de avaliação sensorial como sabor, odor e coloração (Li et al., 2013). Conseqüentemente, se os extratos utilizados nos produtos funcionarem como conservantes naturais, espera-se que odores e sabores rançosos, além de coloração estranha e indesejada, sejam evitados ou diminuídos nestes alimentos.

## REFERÊNCIAS:

- Alirezalu, K.; Hesari, J.; Nemati, Z.; Munekata, P. E. S.; Barba, F. J.; Lorenzo, J. M. (2019). Combined effect of natural antioxidants and antimicrobial compounds during refrigerated storage of nitrite-free frankfurter-type sausage. **Food Research International**, 120, 839-850.
- André, C. M.; Larondelle, Y.; Evers, D. (2010). Dietary Antioxidants and Oxidative Stress from a Human and Plant Perspective: A Review. **Current Nutrition & Food Science**, 6, 2-12.
- Anesini, C.; Ferraro, G. E.; Filip, R. (2008). Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, 9225-9229.
- Araújo, F. F.; Neri-Numa, I. A.; Farias, D. P.; Cunha, G. R. M. C.; Pastore, G. M. (2019). Wild Brazilian species of *Eugenia genera* (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food Research International**, 121, 87-72.
- Atnafie, B.; Paulos, D.; Abera, M.; Tefera, G.; Hailu, D.; Kasaye, S.; Amenu, K. (2017). Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle feces and contamination of carcass and various contact surfaces in abattoir and butcher shops of Hawassa, Ethiopia. **BMC Microbiology**, 17-24.
- Badolato, M.; Carullo, M.; Cione, E.; Aiello, F. (2017). From the hive: Honey, a novel weapon against cancer. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 142, 290-299.
- Banerjee, S.; Chatterjee J. (2015). Efficient extraction strategies of tea (*Camellia sinensis*) biomolecules. **Journal of Food Science and Technology**, 52(6), 3158-3168.
- Bellés, M.; Alonso, V.; Roncalés, P.; Beltrán, J. A. (2019). Sulfite-free lamb Burger meat: antimicrobial and antioxidant properties of green tea and carvacrol. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 99, 464-472.
- Brasil, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. **Aprova o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Diário Oficial [da] União, Brasília, 29 mar. 2017. Seção 2, p. 59-64.
- Brasil, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000. **Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer**. Diário Oficial [da] União, Brasília, 31 jul. 2000. Anexo IV, p. 9-11.
- Carvalho, F. A. L.; Pateiro, M.; Domínguez, R.; Barba-Orellana, S.; Mattar, J.; Brnčić, S. R.; Barba, F. J.; Lorenzo, J. M. (2019). Replacement of meat by spinach on physicochemical and nutritional properties of chicken burgers. **Journal of Food Processing and Preservation**, 43, e13935.
- Carocho, M.; Morales, P.; Ferreira, I. C. F. R. (2018). Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. **Trends in Food Science and Technology**, 71, 107-120.
- Chattopadhyay, P.; Besra, S. E.; Gomes, A.; Das, M.; Sur, P.; Mitra, S.; Vedasiromoni, J. R. (2004). Anti-inflammatory activity of tea (*Camellia sinensis*) root extract. **Life Sciences**, 74, 1839-1849.
- Chemat, F.; Vian, M. A.; Cravotto, G. (2012). Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. **International Journal of Molecular Sciences**, 13, 8615-8627.
- Chiu, P-E.; Lai, L-S. (2010). Antimicrobial activities of tapioca starch/decolorized hsian-tsoa leaf gum coatings containing green tea extracts in fruit-based salads, romaine hearts and pork slices. **International Journal of Food Microbiology**, 139, 23-30.



- Dai, W.; Xie, D.; Lu, M.; Li, P.; Lv, H.; Yang, C.; Peng, Q.; Zhu, Y.; Guo, L.; Zhang, Y.; Tan, J.; Lin, Z. (2017). Characterization of White tea metabolome: Comparison against green and black tea by a nontargeted metabolomics approach. **Food Research International**, 96, 40-45.
- Duarte, M. R.; Menarim, D. O. (2006). Morfodiagnose da anatomia foliar e caulinar de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theacea. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 16(4), 545-551.
- Echegaray, N.; Gómez, B.; Barba, F. J.; Franco, D.; Estévez, M.; Carballo, J.; Marszalek, K.; Lorenzo, J. M. (2018). Chestnuts and by-products as source of natural antioxidants in meat and meat products: A review. **Trends in Food Science and Technology**, 82, 110-121.
- Ferrari, C. K. B. (1998). Lipid oxidation in food and biological systems: general mechanisms and nutritional and pathological implications. **Revista de Nutrição**, 11(1), 3-14.
- Firuzi, M. R.; Niakousari, M.; Eskandari, M. H.; Keramat, M.; Gahruie, H. H.; Khaneghah, A. M. (2019). Incorporation of pomegranate juice concentrate and pomegranate rind powder extract to improve the oxidative stability of frankfurter during refrigerated storage. **LWT – Food Science and Technology**, 102, 237-245.
- Franz, C. M. P. A.; den Besten, H. M. W.; Böhnlein, C.; Gareis, M.; Zwietering, M. H.; Fusco, V. (2018). Microbial food safety in the 21st century: Emerging challenges and foodborne pathogenic bacteria. **Trends in Food Science and Technology**, 81, 155-158.
- Fu, Y.; Sarkar, P.; Bhunia, A. K.; Yao, Y. (2016). Delivery systems of antimicrobial compounds to food. **Trends in Food Science & Technology**, 57, 165-177.
- Ganiari, S.; Choulitoudi, E.; Oreopoulou, V. (2017). Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. **Trends in Food Science and Technology**, 70-82.
- Gómez-Estaca, J.; López-de-Discatillo, C.; Hernández-Muñoz, P.; Catalá, R.; Gavara, R. (2014). Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science and Technology**, 35, 42-51.
- Gómez, M.; Lorenzo, J. M. (2012). Effect of packaging conditions on shelf-life of fresh foal meat. **Meat Science**, 91, 513-520.
- Gómez, M.; Barba, F. J.; Dominguez, R.; Putnik, P.; Kovacevic, D. B.; Pateiro, M.; Toldrá, F.; Lorenzo, J. M. (2018). Microencapsulation of antioxidants compounds through innovative Technologies and its specific application in meat processing. **Trends in Food Science and Technology**, 82, 135-147.
- Goodman, B. A.; Yeretian, C.; Stolze, K.; Wen, D. (2013). Quality aspects of coffees and teas: Application of electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy to the elucidation of free radical and other processes. **Agricultural Sciences**, 4(8), 433-442.
- Gorji, S. G.; Smyth, H. E.; Sharma, M.; Fitzgerald, M. (2016). Lipid Oxidation in mayonnaise and the role of natural antioxidants: A review. **Trends in Food Science and Technology**, 56, 88-102.
- Gostin, A-I.; Waisundara, V. Y. (2019). Edible flowers as functional food: A review on artichoke (*Cynara cardunculus* L.). **Trends in Food Science and Technology**, 86, 381-391.
- Granato, D., Grevink, R., Zielinski, A. A. F., Nunes, D. S., & van Ruth, S. M. (2014). Analytical Strategy Coupled with Response Surface Methodology to Maximize the Extraction of Antioxidants from Ternary Mixtures of Green, Yellow, and Red Teas (*Camellia sinensis* var. *sinensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62(42), 10283–10296.
- Gray, J. I.; Monahan, F. J. (1992). Measurement of lipid oxidation in meat and meat products. **Trends in Food Science and Technology**, 1 (3), 315-319.

- Gupta, D.; Kumar, M. (2017). Evaluation of in vitro antimicrobial potential and GC-MS analysis of *Camellia sinensis* and *Terminalia arjuna*. **Biotechnology Reports**, 13, 19-25.
- Gutiérrez-Grijalva, E.P.; Ambriz-Pérez, D.L.; Leyva-López, N.; Castillo-López, R.I.; Heredia, J.B. (2016). Review: Dietary phenolic compounds, health benefits and bio accessibility. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 66, 87–100.
- Guyon, C.; Meynier, A.; Lamballerie, M. (2016). Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. **Trends in Food Science and Technology**, 50, 131-143.
- Ho, C-T.; Zheng, X.; Li, S. (2015). Tea aroma formation. **Food Science and Human Wellness**, 4, 9-27.
- Horžić, D.; Režek, A. R.; Belščak-Cvitanović, A.; Komes, D.; Lelas, V. (2012). Comparison of Conventional and Ultrasound Assisted Extraction Techniques of Yellow Tea and Bioactive Composition of Obtained Extracts. **Food and Bioprocess Technology**, 5(7), 2858-2870.
- Hu, B.; Li, C.; Qin, W.; Zhang, Z.; Liu, Y.; Zhang, Q.; Liu, A.; Jia, R.; Yin, Z.; Han, X.; Zhu, Y.; Luo, Q.; Liu, S. (2019). A method for extracting oil from tea (*Camellia sinensis*) seed by microwave in combination with ultrasonic and evaluation of its quality. **Industrial Crops & Products**, 131, 234-242.
- Imran, A.; Butt, M. S.; Xiao, H.; Imran, M.; Rauf, A.; Mubarak, M. S.; Ramadan, M. F. (2019). Inhibitory effect of black tea (*Camellia sinensis*) theaflavins and thearubigins against HCT 116 colon cancer cells and HT 460 lung cancer cells. **Journal of Food Biochemistry**, e12822.
- Jayawardana, B. C.; Warnasooriya, V. B.; Thotawattage, G. H.; Dharmasena, V. A. K. I.; Liyanage, R. (2019). Black and Green Tea (*Camellia sinensis* L.) extracts as natural antioxidants in uncured pork sausages. **Journal of Food Processing and Preservation**, 43, e13870, 1-8.
- Jin, S-K.; Choi, J. S.; Yang, H-S.; Park, T-S.; Yim, D-G. (2018). Natural curing agents as nitrite alternatives and their effects on the physicochemical, microbiological properties and sensory evaluation of sausages during storage. **Meat Science**, 146, 34-40.
- Jongberg, S.; Torngren, M A.; Gunvig, A.; Skibsted, L. H.; Lund, M. N. (2013). Effect of green tea or Rosemary extract on protein oxidation in Bologna type sausages prepared from oxidatively stressed pork. **Meat Science**, 93, 538-546.
- Jongberg, S.; Terkelsen, L. S.; Miklos, R.; Lund, M. N. (2015). Green tea extract impairs meat emulsion properties by disturbing protein disulfide cross-linking. **Meat Science**, 100, 2-9.
- Komes, D.; Horzic, D.; Belscak, A.; Ganic, K. K.; Vulic, I. (2010). Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. **Food Research International**, 43, 167-176.
- Kumar, Y.; Langoor, B. A. (2015). Effects of Aloe, Green Tea, and Amla Extracts on Microbiological and Oxidative Parameters of Refrigerated Raw Meat Batter. **Agricultural Research**, 5(1), 81-88.
- Lapornik, B.; Prošek, M.; Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**, 71, 214-222.
- Lee, M-K.; Kim, H-W.; Lee, S-H.; Kim, Y. J.; Asamenew, G.; Choi, J.; Lee, J-W.; Jung, H-A.; Yoo, S. M.; Kim, J-B. (2018). Characterization of catechins, theaflavins, and flavonols by leaf processing step in green and black teas (*Camellia sinensis*) using PLC-DAD-QToF/MS. **European Food Research and Technology**, 245(5), 997-1010.

- Li, T.; Li, J.; Hu, W.; Li, X. (2013). Quality enhancement in refrigerated red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets using chitosan coatings containing natural preservatives. **Food Chemistry**, 138, 821-826.
- Lin, Y-S.; Wu, S-S.; Lin, J-K. (2003). Determination of Tea Polyphenols and Caffeine in Tea Flowers (*Camellia sinensis*) and Their Hydroxyl Radical Scavenging and Nitric Oxide Suppressing Effects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 975-980.
- Liu, F.; Xu, Q.; Dai, R.; Ni, Y. (2015). Effects of natural antioxidants on colour stability, lipid oxidation and metmyoglobin reducing activity in raw beef patties. **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**, 14(1), 37-44.
- Longato, E.; Lucas-González, R.; Peiretti, P.G.; Meineri, G.; Pérez-Alvarez, J. A.; Viuda-Matos, M.; Fernández-López, J. (2017). The Effect of Natural Ingredients (Amaranth and Pumpkin Seeds) on the Quality Properties of Chicken Burgers. **Food Bioprocess Technology**, 10, 2060-2068.
- Lorenzo, J. M.; Vargas, F. C.; Strozzi, I.; Pateiro, M.; Furtado, M. M.; Sant'Ana, A. S.; Rochetti, G.; Barba, F. J.; Dominguez, R.; Lucini, L.; Sobral, P. J. A. (2018). Influence of pitanga leaf extracts on lipid oxidation of pork burger during shelf-life. **Food Research International**, 114, 47-54.
- Lorenzo, J. M.; Sineiro, J.; Amado, I. R.; Franco, D. (2014). Influence of natural extracts on the shelf life of modified atmosphere-packaged pork patties. **Meat Science**, 96, 526-534.
- Lung, H-M.; Cheng, Y-C.; Chang, Y-H.; Huang, H-W.; Yang, B. B.; Wang, C-Y. (2015). Microbial decontamination of food by electron beam irradiation. **Trends in Food Science & Technology**, 44, 66-78.
- Mahmood, T.; Akhtar, N.; Khan, B. A. (2010). The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis*' tea. **Journal of Medicinal Plants Research**, 4(19), 2028-2033.
- Marques, L. C. (2005). Preparação de extratos vegetais. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**, 3(2), 74-76.
- Mattje, L. G. B.; Tormen, L.; Bombardelli, M. C. M.; Corazza, M. L.; Bainy, E. M. (2019). Ginger essential oil and supercritical extract as natural antioxidants in tilapia fish burger. **Journal of Food Processing and Preservation**, 43(5), 1-8.
- Mbata, T. I.; Debiao, L. U.; Saikia, A. (2008). Antibacterial activity of the crude extract of Chinese green tea (*Camellia sinensis*) on *Listeria monocytogenes*. **African Journal of Biotechnology**, 7(10), 1571-1573.
- Medina-Torres, N.; Ayora-Talavera, T.; Espinosa-Andrews, H.; Sánchez-Contreras, A.; Pacheco, N. (2017). Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. **Agronomy**, 7(47).
- Nam, K.C.; Jo, C.; Lee, M. (2010). Meat products and consumption culture in the East. **Meat Science**, 86, 95-102.
- Nirmal, N. P.; Benjakul, S. (2011a). Retardation of quality changes of Pacific white shrimp by green tea extract treatment and modified atmosphere packaging during refrigerated storage. **International Journal of Food Microbiology**, 247-253.
- Nirmal, N. P.; Benjakul, S. (2011b). Use of tea extracts for inhibition of polyphenoloxidase and retardation of quality loss of Pacific White shrimp during iced storage. **LTW - Food Science and Technology**, 924-932.
- Nirmala, C.; Bisht, M. S.; Bajwa, H. K.; Santosh, O. (2018). Bamboo: A rich source of natural antioxidants and its applications in the food and pharmaceutical industry. **Trends in Food Science and Technology**, 77, 91-99.

- Nishiyama M. F.; Costa, M. A. F.; Costa, A. M.; Souza, C. G. M.; Bôer, C. G.; Bracht, C. K.; Peralta, R. M. (2010). Brazilian green tea (*Camellia sinensis* var *assamica*): Effect of infusion time, mode of packaging and preparation on the extraction efficiency of bioactive compounds and the stability of the beverage. **Food Science and Technology**, 30(1), 191-196.
- Norrung, B.; Buncic, S. (2008). Microbial safety of meat in the European Union. **Meat Science**, 78, 14-24.
- Oliveira, D. F.; Coelho, A. R.; Burgardt, V. C. F.; Hashimoto, E. H.; Lunkes, A. M.; March, J. F.; Tonial, I. B. (2013). Alternativas para um produto cárneo mais saudável: uma revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, 16(3), p. 163-174.
- Özvural, E. B.; Huang, Q.; Chikindas, M. L. (2016). The comparison of quality and microbiological characteristic of hamburger patties enriched with green tea extract using three techniques: Direct addition, edible coating and encapsulation. **LWT – Food Science and Technology**, 68, 385-390.
- Panic, M.; Stojkovic, M. R.; Kraljic, K.; Skevin, D.; Redovnikovic, I. R.; Srcek, V. G.; Radosevic, K. (2019). Ready-to-use polyphenolic extracts from food by-products. **Food Chemistry**, 283, 628-636.
- Pateiro, M.; Lorenzo, J.M.; Amado, I.R.; Franco, D. (2014). Effect of addition of green tea, chestnut and grape extract on the shelf-life of pig liver pâté. **Food Chemistry**, 147, 386-394.
- Patra, J. K.; Das, G.; Lee, S.; Kang, S-S.; Shin, H-S. (2018). Selected commercial plants: A review of extraction and isolation of bioactive compounds and their pharmacological market value. **Trends in Food Science and Technology**, 82, 89-109.
- Pérez-Burillo, S.; Giménez, R.; Rufián-Henares, J. A.; Pastoriza, S. (2018). Effect of brewing time and temperature on antioxidant capacity and phenols of white tea: Relationship with sensory properties. **Food Chemistry**, 248, 111-118.
- Prado, M. E. A.; Queiroz, V. A. V.; Correia, V. T. V.; Neves, E. O.; Ronchetti, E. F. S.; Gonçalves, A. C. A.; Menezes, C. B.; Oliveira, F. C. E. (2019). Physicochemical and sensorial characteristics of beef burgers with added tannin and tannin-free whole sorghum flours as isolated soy protein replacer. **Meat Science**, 150, 93-100.
- Price, A.; Díaz, P.; Bañón, S.; Garrido, M. D. (2013). Natural extracts versus sodium ascorbate to extend the shelf life of meat-based ready-to-eat meals. **Food Science and Technology International**, 19(5), 427-438.
- Quinto, E. J.; Caro, I.; Villalobos-Delgado, L. H.; Mateo, J.; De-Mateo-Silleras, B.; Redondo-Del-Río (2019). Food Safety through Natural Antimicrobials. **Antibiotics**, 8, 208.
- Ranilla, L. G.; Kwon, Y.; Apostolidis, E.; Shetty, K. (2010). Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. **Bioresource Technology**, 101, 4676, 4689.
- Ribeiro, J. S.; Santos, M. J. M. C.; Silva, L. K. R.; Pereira, L. C. L.; Santos, I. A.; Lannes, S. C. S.; Silva, M. V. (2019). Natural antioxidants used in meat products: a brief review. **Meat Science**, 148, 181-188.
- Rohde, A.; Hammerl, J. A.; Boone, I.; Janses, W.; Fohler, S.; Klein, G.; Dieckman, R.; Dahouk, S. A. (2017). Overview of validated alternative methods for the detection of foodborne bacterial pathogens. **Trends in Food Science and Technology**, 62, 113-118.
- Roohinejad, S.; Koubaa, M.; Barba, F. J.; Greiner, R.; Orlien, V.; Lebovka, N. I. 2016. Negative pressure cavitation extraction: A novel method for extraction of food bioactive compounds from plants materials. **Trends in Food Science & Technology**, 52, 98-108.

- Ruíz-Cruz, S.; Valenzuela-López, C. C.; Chaparro-Hernández, S.; Ornelas-Paz, J. J.; Deltoro-Sánchez, C. L.; Márquez-Ríos, E.; López-Mata, M. A.; Ocaño-Higuera, V. M.; Valdez-Hurtado, S. Effects of chitosan-tomato plant extract edible coatings on the quality and shelf life of chicken fillets during refrigerated storage. **Food Science and Technology**, 39(1), 103-111.
- Rusak, G.; Komes, D.; Likic, S.; Horžić, D.; Kovac, M. (2008). Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. **Food Chemistry**, 110, 852-858.
- Saeed, M.; Naveed, M.; Arif, M.; Kakar, M. U.; Manzoor, R.; El-Hack, M. E. A.; Alagawany, M.; Tiwari, R.; Khandia, R.; Munjal, A.; Karthik, K.; Dhama, K.; Iqbal, H. M. N.; Dadar, M.; Sun, C. (2017). Green tea (*Camellia sinensis*) and L-theanine: Medicinal values and beneficial applications in humans – A comprehensive review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, 95, 1260-1275.
- Sagar, N. A.; Pareek, S.; Sharma, S.; Yahia, E. M.; Lobo, M. G. (2018). Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 17, 512-531.
- Scalbert, A.; Johnson, I. A.; Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 81, 215S-217S.
- Schilling, M. W.; Pham, A. J.; Williams, J. B.; Xiong, Y. L.; Dhowlaghar, N.; Tolentino, A. C. (2018). Changes in the physiochemical, microbial, and sensory characteristics of fresh pork sausage containing Rosemary and green tea extracts during retail display. **Meat Science**, 143, 199-209.
- Shah, S. B.; Parveen, Z.; Bilal, M.; Sartaj, L.; Bibi, S.; Nasir, A.; Mahmood, A. (2018). Assessment of antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity properties of *Camellia sinensis* L. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, 31(4), 1285-1291.
- Shalaby, A. R.; Anwar, M. M.; Sallam, E. M. (2018). Improving quality and shelf-life of minced beef using irradiated olive leaf extract. **Journal of Food Processing and Preservation**, 42:e13789.
- Shahidi, F.; Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. **Journal of Functional Foods**, 18, 820–897.
- Shtay, R.; Keppler, J. K.; Schrader, K.; Schwarz, K. (2019). Encapsulation of (–)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) in solid lipid nanoparticles for food applications. **Journal of Food Engineering**, 244, 91-100.
- Silva, F. F. P.; Horvath, M. B.; Silveira, J. G.; Pieta, L.; Tondo, E. C. (2014). Occurrence of *Salmonella* spp. and generic *Escherichia coli* on beef carcasses sampled at a Brazilian slaughterhouse. **Brazilian Journal of Microbiology**, 45(1), 17-23.
- Sökmen, M.; Demir, E.; Alomar, S. Y. (2018). Optimization of sequential supercritical fluid extraction (SFE) of caffeine and catechins from green tea. **The Journal of Supercritical Fluids**, 133, 171-176.
- Soncu, E. D.; Kolsarici, N. (2017). Microwave thawing and green tea extract efficiency for the formation of acrylamide throughout the production process of chicken burgers and chicken nuggets. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 97, 1790-1797.
- Soriano, A.; M. E.; Alañón, M. E.; Alarcón, M.; García-Ruiz, A.; Díaz-Maroto, M. C. (2018). Oak wood extracts as a natural antioxidant to increase shelf life of raw pork patties in modified atmosphere packaging. **Food Research International**, 111, 524-533.

- Soto-Vaca, A.; Gutierrez, A.; Losso, J. N.; Xu, Z.; Finley, J. W. (2012). Evolution of Phenolic Compounds from Color and Flavor Problems to Health Benefits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 60(27), 6658-6677.
- Souza, E. L.; Stamford, T. L. M.; Lima, E. O.; Trajano, V. N.; Barbosa Filho, J. M. (2005). Antimicrobial Effectiveness of Spices: An Approach for Use in Food Conservation Systems. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 48(4), 549-558.
- Spencer, E. H.; Frank, E.; McIntosh, N. F. (2005). Potential effects of the next 100 billion hamburgers sold by McDonald's. **American Journal of Preventive Medicine**, 28(4), 379-381.
- Spigno, G.; De Faveri, D. M. (2009). Microwave-assisted extraction of tea phenols: A phenomenological study. **Journal of Food Engineering**, 93, 210-217.
- Sun, H.; Chen, Y.; Cheng, M.; Zhang, X.; Zheng, X.; Zhang, Z. (2018). The modulatory effect of polyphenols from green tea, oolong tea and black tea on human intestinal microbiota in vitro. **Journal of Food Science and Technology**, 55(1), 399-407.
- Sundararajan, S.; Prudente, A.; Bankston, J. D.; King, J. M.; Wilson, P.; Sathivel, S. (2011). Evaluation of Green Tea Extract as a Glazing Material for Shrimp Frozen by Cryogenic Freezing. **Journal of Food Science**, 76(7), e511-e518.
- Sung, N-K.; Song, H.; Ahn, D-H.; Yoo, Y-C.; Byun, E-B.; Jang, B-S; Park, C.; Park, W-J.; Byun, E-H. (2016). Antioxidant and Neuroprotective Effects of Green Tea Seed Shell Ethanol Extracts. **Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition**, 45(7), 958-965.
- Tafida, S. Y.; Kabir, J.; Kwaga, J. K. P.; Bello, M.; Umoh, V. J.; Yakubu, S. E.; Nok, A. J.; Hendriksen, R. (2013). Occurrence of *Salmonella* in retail beef and related meat products in Zaria, Nigeria. **Food Control**, 32, 119-124.
- Tamkuté, L.; Gil, B. M.; Carballido, J. R.; Pukalskiené, M.; Venskutonis, P. R. (2019). Effect of cranberry pomace extracts isolated by pressurized ethanol and water on the inhibition of food pathogenic/spoilage bacteria and the quality of pork products. **Food Research International**, 120, 38-51.
- Thakur, P.; Chawla, R.; Chakotiya, A. S.; Tanwar, A.; Goel, R.; Nerula, A.; Arora, R.; Sharma, R. K. (2016). *Camellia sinensis* Ameliorates the Efficacy of Last Line Antibiotics Against Carbapenem Resistant *Escherichia coli*. **Phytotherapy Research**, 30, 314-322.
- Veiga Júnior, V. F.; Pinto, A. C.; Maciel, M. A. M. (2005). Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, 28(3), 519-528.
- Wang, K.; Ruan, J. (2009). Analysis of chemical components in green tea in relation with perceived quality, a case study with Longjing teas. **International Journal of Food Science and Technology**, 44, 2476-2484.
- Wang, Y.; Li, F.; Zhuang, H.; Li, L.; Chen, X.; Zhang, J. (2015). Effects of Plant Polyphenols and  $\alpha$ -Tocopherol on Lipid Oxidation, Microbiological Characteristics, and Biogenic Amines Formation in Dry-Cured Bacons. **Journal of Food Science**, 80(3), c547-c555.
- Xi, D.; Liu, C.; Su, Y-C. (2012). Effects of green tea extract on reducing *Vibrio parahaemolyticus* and increasing shelf life of oyster meats. **Food Control**, 25, 368-373.
- Zapata-Álvarez, A.; Mejía, C. E.; Restrepo-Molina. (2019). Efecto Protector de un Antimicrobiano Natural Frente a *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium* y *E. coli* em Salsicha y Mortadela. **Información Tecnológica**, 30(2), 235-244.
- Zhao, C-N.; Tang, G-Y.; Cao, S-Y.; Xu, X-Y.; Gan, R-Y.; Liu, Q.; Mao, Q-Q.; Shang, A.; Li, H-B. (2019). Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of 30 Infusions from Green, Black, Oolong, White, Yellow and Dark Teas. **Antioxidants**, 8(7), 215.

**CAPITULO II****ARTIGO CIENTÍFICO**

Artigo científico formatado conforme as normas da revista *Meat Science*.

## Green tea extract as a natural biopreservative in chicken burgers

Rafael Sepúlveda Fonseca Trevisan Passos<sup>a</sup>, Carlos Pasqualin Cavalheiro<sup>a\*</sup>.

<sup>a</sup> Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarne), Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMEVZ), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia, Brazil.

\* Corresponding author: [carlos.cavalheiro@ufba.br](mailto:carlos.cavalheiro@ufba.br)

### Abstract

This study evaluated the addition of green tea extracts (GTE) and their effect on the physicochemical and sensory properties of chicken burgers. Ethanolic extracts (E1, E2, E3, and E4) showed higher total phenolic and flavonoid contents of 92.94–121.55 mg GAE/mL and 58.86–69.41 mg EPI/g, respectively, than the aqueous extract with 75.51 mg GAE/mL and 50.47 mg EPI/g, respectively. Extract (E1) was used for DPPH analysis (showing 75.73% inhibition of DPPH radical), then added to chicken burgers at concentrations of 0% (control), 0.5% (GT-0.5), and 1.0% (GT-1.0) and analyzed during refrigerated storage for 10 d. Lower cooking yields and lower hardness values were observed in GT-1.0. GTE effectively delayed lipid oxidation of chicken burgers during storage. Additionally, redness parameters were affected and this was observed following sensory analysis. However, GT-1.0 showed lower mesophilic, psychrotrophic, Enterobacteriaceae, and Gram-positive cocci bacterial counts until day 7 of storage.



24 Therefore, the addition of 0.5% GTE is a viable option for the processing of chicken  
25 products.

26 **Key-words:** *Camellia sinensis*, chicken patties, color parameters, lipid oxidation, natural  
27 extract, phenolic

28

## 29 **1. Introduction**

30 Meat burgers are a popular meat product in Brazil. High acceptance of this product  
31 is due to its convenience, low price with high nutritional value, and sensorial satisfaction  
32 (Mizi et al., 2019). Burgers are made using beef, but chicken and pork can also be used.  
33 The use of chicken improves the nutritional value of burgers due to its high-value  
34 proteins, essential fatty acids, and mineral content (Angiolillo, Conte, & Del Nobile, 2015).  
35 However, their (chicken) unsaturated fatty acids make chicken burgers susceptible to lipid  
36 oxidation during storage (Elhadi, Elgasim, & Ahfmed, 2017). Additionally, microbial  
37 spoilage and potential contamination by pathogenic bacteria, such as *Escherichia coli* and  
38 *Salmonella* spp. are a concern (Franz et al., 2018; Djeane, Gómez, Yangüela, Roncalés,  
39 & Ariño, 2019). Lipid oxidation and microbial spoilage, besides being a risk to  
40 consumer's health lead to off-flavor development and discoloration, which decreases the  
41 consumer acceptance of meat and meat products (Faustman, Sun, Mancini, & Suman,  
42 2010; Karakaya, Bayrak, & Ulusoy, 2011).

43 Therefore, meat processing companies traditionally use synthetic compounds to  
44 prevent oxidative deterioration and microbial spoilage, thereby prolonging the shelf life  
45 of meat products (Ryu, Shim, & Shin, 2014; Carocho, Morales, & Ferreira, 2015).  
46 Butylhydroxyanisol (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), and propyl gallate (PG)  
47 are the most traditionally used antioxidants in food processing; however, their usage is

48 controversial due to their potential adverse effects on human health (Pereira et al., 2017).  
49 In Brazil, the maximum dose allowed for BHA, BHT, and PG is 100 mg/kg for each  
50 antioxidant (Brazil, 2006); and 200 mg/kg in Canada; while, in the United States, it is 50  
51 mg/kg for BHA and BHT as well as 200 mg/kg (of fat content) for PG (Sahidi & Zhong,  
52 2005; Taghvaei & Jafari, 2013). Also, other countries have banned the use of some  
53 synthetic antioxidants in food processing (Taghvaei & Jafari, 2013).

54 Natural compounds, especially those derived from plants, have become an  
55 alternative to harmful synthetic antioxidants (Ribeiro et al., 2019). Several natural  
56 extracts, such as hibiscus, grape seed, pomegranate (Firuzi et al., 2019), rosemary, sage  
57 (Jayawardana, Warnasooriya, Thotawattage, Dharmasena, & Liyanage, 2019), Flame vine,  
58 and Mamica-de-cadela (Ferreira, Rosset, Lima, Campelo, & Macedo, 2019) have been  
59 studied in meat products. The green tea (*Camellia sinensis*) is popular during  
60 phytotherapy due to its biological properties (Xing, Zhang, Qi, Tsao, & Mine, 2019) and  
61 can be used as a biopreservative in food processing. Green tea extracts (GTE) have been  
62 successful used to improve the shelf life of beef burgers, chicken nuggets, pork liver  
63 patties, and redfish, (Price, Díaz, Bañón, & Garrido, 2013; Pateiro, Lorenzo, Amado, &  
64 Franco, 2014; Soncu & Kolsarici, 2017; Bellés, Alonso, Roncalés, & Beltrán, 2019). Few  
65 studies have only explored the effect of different extraction conditions of the applied  
66 extracts.

67 Lipid oxidation and microbial spoilage of chicken burgers negatively affect its  
68 sensory acceptance and shelf life. This study assessed the effect of different extraction  
69 conditions and GTE concentrations on the physicochemical, microbial, and sensory  
70 characteristics of chicken burgers stored for 10 d at 4°C.

71

## 72 **2. Material and Methods**

### 73 2.1. Preparation of GTE

74 Green tea leaves (Qualy Ervas Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, Brazil) were  
75 obtained in a local market (Salvador, Brazil), ground using a blender (R1 1353, Philips  
76 Walita, Varginha, Brazil), and stored in the dark at  $-18^{\circ}\text{C}$ . Samples (10 g) were added to  
77 100 mL of solvent and 5 GTE were prepared with different solvents, times, and  
78 temperatures of extraction as follows: 75% ethanol-water (v/v) for 15 min/ $80^{\circ}\text{C}$  (E1),  
79 75% ethanol-water (v/v) for 30 min/ $60^{\circ}\text{C}$  (E2), 75% ethanol-water (v/v) for 60 min at  
80  $40^{\circ}\text{C}$  (E3), 75% ethanol-water (v/v) for 24 h/ $25^{\circ}\text{C}$  (E4), and distilled water for 5  
81 min/ $100^{\circ}\text{C}$  for a traditional tea preparation (E5). After homogenization using a magnetic  
82 stirrer (EDUTECH, EEQ-9008A-2, Brazil), extracts were allowed to cool, filtered  
83 (Whatman #1, Sigma-Aldrich, Germany), and immediately used for the analyses of total  
84 phenolic and flavonoid contents as well as their antioxidant activities.

85

### 86 2.2. Total phenolics, total flavonoids, and antioxidant activity

87 Total phenolic content was determined according to the Folin-Ciocalteu  
88 spectrophotometric method as described by Singleton, Orthofer, and Lamuela-Raventós  
89 (1999). Different gallic acid concentrations (0.10–0.75 mg/mL) were used to plot the  
90 calibration curve and results were expressed as gallic acid equivalents (mg GAE/mL  
91 extract). The absorbance of mixtures was determined at 760 nm (Bel Photonics UV-M51,  
92 Piracicaba, Brazil).

93 Total flavonoid content was determined using a colorimetric assay proposed by  
94 Zhishen, Mengcheng and Jianming (1999). The absorbance of mixtures was determined  
95 at 510 nm (Bel Photonics UV-M51, Piracicaba, Brazil) and results were expressed as the  
96 milligram of epicatechin equivalents per milliliter of extract (mg EPI/mL extract). The

97 extracts with higher total phenolic and flavonoid contents were chosen for 1,1-Diphenyl  
98 1-2-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and used during the processing  
99 of chicken burgers.

100 DPPH free radical scavenging activity was evaluated using the method proposed  
101 by Brand-Williams, Cuvelier, and Berset (1995). A decrease in absorbance at 515 nm  
102 (Bel Photonics UV-M51, Piracicaba, Brazil) of 100 mmol/L DPPH (Sigma Chemical Co.,  
103 St. Louis, USA) dissolved in 80% methanol was measured at room temperature 30 min  
104 after the sample was added. The DPPH free radical scavenging activity was performed in  
105 triplicate, expressed as the percentage of inhibition of the DPPH radical, and calculated  
106 using equation (1).

107

$$108 \quad AA\% = \frac{\text{Blank absorbance} - \text{Sample absorbance}}{\text{Blank absorbance}} \times 100$$

109 (1)

### 110 2.3. Preparation of chicken burgers

111 Boneless chicken breast, thigh, and drumsticks were purchased in a local market  
112 (Salvador, Brazil) and transported in iceboxes to the processing plant (Federal University  
113 of Bahia, Brazil). In three days, chicken burgers were prepared in duplicate. The meat  
114 and chicken skin were ground using a meat grinder (8-mm diameter die plate) (MCR08  
115 3.0, Arbel, São José do Rio Preto, Brazil) and divided into 3 treatments, as follows:  
116 control, with no addition of GTE and composed of chicken meat (84.27%), chicken skin  
117 (9.36%), water (4.68%), salt (1.50%), and white pepper (0.19%); GT-0.5, the addition of  
118 0.5% GTE to replace water; and GT-1.0, the addition of 1.0% GTE to replace water. Each  
119 formulation was aseptically hand-mixed for 7 min, after which 80 g portions were shaped  
120 using a burger former (10-cm diameter and 1-cm thickness), packaged under aerobic

121 conditions in polyvinyl chloride bags, and stored at 4°C for 10 d. The day after  
122 production, chicken burgers were analyzed for cooking yield, proximate composition, and  
123 texture, meanwhile, during the storage period, other analyses were performed. Sensory  
124 analysis was conducted after the microbial characterization of the product.

125

## 126 *2.4. Physicochemical properties*

### 127 *2.4.1. Cooking yield*

128 Chicken burgers (three samples per treatment) were weighed before and after  
129 cooking (until the internal temperature reached 72°C), after which the cooking yield was  
130 calculated using the formula:  $\text{Yield (\%)} = \text{EP weight} \div \text{AP weight} \times 100$ . Where 'AP' is  
131 the as raw weight and 'EP' is the edible product weight (Devatkal, Thorat, Manjunatha,  
132 & Anurag, 2012).

133

### 134 *2.4.2 Proximate analysis*

135 The proximate analysis of chicken burgers was performed according to the  
136 method by the AOAC (Cunniff, 1998) for moisture (950.46), protein (981.10), ash  
137 (920.153), and fiber (978.10) determination. The lipid content was measured as described  
138 by Bligh and Dyer (1959). Results from the proximate analysis were expressed as g/100  
139 g. The energy value (kcal) of the samples was calculated using the values, which  
140 correspond to fat (9 kcal/g), protein (4 kcal/g), and fiber (2 kcal/g) (European Union,  
141 2011). All analyses were conducted in triplicate.

142

### 143 *2.4.3. Texture profile analysis (TPA)*

144 Instrumental TPA was conducted using a TAXT Express texture analyzer (Stable  
145 Micro Systems Ltd., Surrey, England). For TPA, which consists of two cycles of  
146 compression with a 3 s delay between cycles and 1.6 mm/s crosshead speed, ten chicken  
147 burgers per sample were compressed using a cylindrical plate and 5 kg power cell. The  
148 parameters, such as hardness, chewiness, and cohesiveness were estimated (Bourne,  
149 2002).

150

#### 151 *2.4.4. Lipid oxidation*

152 Lipid oxidation was estimated in triplicate using thiobarbituric acid reactive  
153 substances (TBARS) assay according to the method described by Triki, Herrero,  
154 Rodríguez-Salas, Jiménez-Colmenero and Ruiz-Capillas (2013) with slight modifications.  
155 Each sample (5 g) was homogenized in 35 mL of 7.5% trichloroacetic acid (Êxodo  
156 Científica, São Paulo, Brazil) for 30 s in a stomacher (LS Logen 1901, Logen Scientific,  
157 São Paulo, Brazil). After which, the mixture was filtered, and then 5 mL was collected  
158 and mixed with 5-mL 20 mM thiobarbituric acid (TBA) (Êxodo Científica). Finally, the  
159 solution was kept in the dark at  $20^{\circ}\text{C} \pm 1.5^{\circ}\text{C}$  for 20 h. The color formed was determined  
160 spectrophotometrically (SP-22, Biospectro, Curitiba, Brazil) at 532 nm. A calibration  
161 curve was plotted with 1,1,3,3-tetraethoxypropane and results were expressed as  
162 milligram of malondialdehyde (MDA)/kg sample.

163

#### 164 *2.4.5. pH*

165 The pH of chicken burgers was determined in triplicate using a pH meter (model  
166 Mpa-210; Tecnopon, São Paulo, Brazil) for 10 g of samples homogenized in 100mL of

167 distilled water., according to analytical standards described by Instituto Adolfo Lutz  
168 (2004).

169

#### 170 *2.4.6. Instrumental color*

171 Color measurements were performed after removing each sample from the  
172 package and exposing it to atmospheric air for 10 min. The instrumental color (CIELAB,  
173 lightness,  $L^*$ ; redness,  $a^*$ ; yellowness,  $b^*$ ) of chicken burgers was measured using a  
174 Chroma Meter CR-5 (Konica Minolta Business Technologies Inc., Tokyo, Japan) with a  
175 D-65 light source, a  $10^\circ$  standard observer, and an 8 mm aperture in the measuring head.  
176 Three measured color parameters were also converted into chroma ( $C^* =$   
177  $[(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$ ), which expresses color purity or saturation, and hue angle ( $h^\circ =$   
178  $\arctan[b^*/a^*]$ ). Five determinations for each sample were performed.

179

#### 180 *2.5. Microbiological properties*

181 Each meat sample (10 g) was aseptically transferred to a sterile stomacher (LS  
182 Logen 1901, Logen Scientific, São Paulo, Brazil), mixed with 90 mL sterile 0.1% peptone  
183 water (Kasvi, São José dos Pinhais, Brazil), and blended for 30 s. Appropriate serial  
184 dilutions were prepared using 0.1% sterile peptone water (9 mL). For mesophilic bacteria,  
185 sample suspensions were inoculated on plate count agar (PCA) (BD Difco, Le Pont de  
186 Claix, France) and incubated for 48 h at  $35^\circ\text{C}$ . For psychrotrophic bacteria, sample  
187 suspensions were inoculated on PCA and incubated for 5 d at  $4^\circ\text{C}$ . For  
188 Enterobacteriaceae, sample suspensions were inoculated on violet red bile agar (VRBA)  
189 (Kasvi, São José dos Pinhais, Brazil) and incubated for 48 h at  $35^\circ\text{C}$ . For Gram-positive

190 cocci, mannitol salt agar (MSA) (Acumedia, Cotia, Brazil) was used and incubation was  
191 performed for 48 h at 35°C.

192

## 193 2.6. *Sensory analysis*

194 To guarantee the safety of consumers, the determination of thermotolerant  
195 coliforms, Enterobacteriaceae, and Gram-positive cocci were performed before sensory  
196 analysis. Chicken burgers were cooked on a grill until the internal temperature reached  
197 72°C, cut into 10 g cubes, and randomly monadically served in disposable plastic cups  
198 coded with 3-digit random numbers. Forty-five untrained panelists (male and female)  
199 with an age range of 18–33 years, evaluated the sensory attributes (overall acceptability,  
200 color, flavor, taste, and texture) of chicken burgers using a 9-point hedonic scale (1 =  
201 extremely dislike and 9 = extremely like) (Peryam & Pilgrim, 1957) and a 5-point hedonic  
202 scale for purchase intention (1 = definitely would not buy and 5 = definitely would buy).  
203 The panelists were instructed to cleanse their palates between samples using water and  
204 unsalted crackers. The acceptability index (AI) was calculated using the relation between  
205 the average score obtained from the samples and the maximum score of the hedonic scale  
206 (9) multiplied by 100, according to Dutcosky (1996).

207

## 208 2.7. *Statistical analyses*

209 Analysis of variance (ANOVA) was performed using SPSS v.17.0 (SPSS Inc.,  
210 Chicago, IL, USA) to analyze the effects of storage periods and different levels of GTE  
211 application on the sample. A completely randomized design included treatment groups  
212 (control, GT-0.05, and GT-1.0) and storage time (0, 3, 7, and 10 d) as fixed effects and



213 replications as the random effect. Tukey's HSD (honestly significant difference) was used  
214 to compare means and significant differences were considered at  $P < 0.05$ .

215

### 216 **3. Results and Discussion**

#### 217 *3.1. Total phenolics, total flavonoids, and antioxidant activity*

218 Results of the total phenolic and flavonoid contents obtained from different  
219 extraction conditions are illustrated in Figure 1. The total phenolic contents obtained were  
220 in the order  $E1 > E2 > E3 > E4 > E5$  (with values of 75.51–121.55 mg GAE/mL) and a  
221 similar trend was observed for flavonoids, i.e., E1 possessed the highest contents (total  
222 phenol and flavonoid). The highest flavonoid content (69.41 mg EPI/mL) was obtained  
223 in E1, showing that extraction conditions (solvent, time, and temperature) exerted  
224 significant effects on the characteristics of GTE. For the flavonoid content, no significant  
225 differences were found between E2, E3, and E4 samples. However, E5 showed the lowest  
226 flavonoid content (50.47 mg EPI/mL), probably due to the high temperature used  
227 (100°C), which may have reduced the quality of phenols (Soquetta, Terra, & Bastos,  
228 2018) and flavonoids (Banerjee & Chanterjee, 2015). Phenolic and flavonoid contents  
229 obtained in this study agree with others involving similar conditions of extraction in green  
230 tea (Bellés, Alonso, Roncalés, & Beltrán, 2019; Tang et al., 2019).

231 Here, due to the higher phenolic and flavonoid contents, E1 was added to chicken  
232 burgers. Earlier in this study, DPPH analysis was performed and E1 showed  $75.73\% \pm$   
233  $0.01$  inhibition of DPPH radical. This result agrees with Colon & Nerín (2016) who  
234 reported 82.23% inhibition of DPPH radical in GTE.

235

#### 236 *3.2. Physicochemical properties*

### 237 3.2.1. *Cooking yield*

238 Cooking yield values of chicken burgers were 53.43%–65.63% (Table 1). The  
239 addition of 0.5% GTE did not affect cooking yield values; however, treatment with 1.0%  
240 GTE showed lower ( $P < 0.05$ ) values than the control. The cooking yield of meat products  
241 is related to moisture and fat loss (during cooking) (Mikhail et al., 2014) and is influenced  
242 by the emulsifying properties of meat proteins (Soltanizadeh & Ghiasi-Esfahani, 2015).  
243 A study by Jongberg, Terkelsen, Miklos, & Lund (2015), also revealed that the addition  
244 of 1,500 ppm GTE reduced the cooking yield of Bologna-type sausages by more than 8%.

245

### 246 3.2.2. *Proximate composition of chicken burgers*

247 Proximate composition of chicken burgers treated with GTE is presented in Table  
248 1. No significant differences were observed for moisture, protein, fat, ash, and fiber  
249 contents. A study by Ferreira et al. (2019) revealed that when low ( $< 1\%$ ) concentrations  
250 of the extracts were added to burgers, the content of macro compounds was insignificantly  
251 affected. Another study also explained that there were no significant differences between  
252 the proximate composition of traditional lamb burgers and those with added natural  
253 antioxidants Fernandes et al. (2017). Energy values of chicken burgers were 133.63–  
254 147.99 kcal/100 g (Table 1) and were similar to those explained by Carvalho et al. (2019),  
255 where spinach replaced meat in chicken burgers (146.75–159.70 kcal/100 g).

256

### 257 3.2.3. *Texture properties*

258 TPA evaluated the hardness, chewiness, and cohesiveness (Table 1) of chicken  
259 burgers, however, the addition of GTE ( $P < 0.05$ ) changed the parameters analyzed.  
260 Chicken burgers treated with 1.0% GTE had lower ( $P < 0.05$ ) hardness and chewiness

261 values than GT-0.5 and the control. According to Santos, Sousa, Almeida, Gusmão, &  
262 Gusmão (2019), both parameters are strongly associated; thus, when hardness values are  
263 high, chewiness is also increased. No significant differences in hardness and chewiness  
264 parameters were found between the control and GT-0.5. A study by Jongberg et al.  
265 (2015), showed that the phenolic contents of GTE may reduce the emulsifying properties  
266 of meat proteins. However, in this study, this (reduction of emulsifying properties of meat  
267 proteins) effect was only significant when 1.0% GTE was added to chicken burgers ( $P <$   
268 0.05) (Table 1). In contrast, cohesiveness was higher ( $P < 0.05$ ) in GT-1.0 than in the  
269 control and GT-0.5.

270

#### 271 3.2.4. Lipid oxidation

272 In meat products, lipid oxidation is one of the main causes of reduction in sensory  
273 quality and shelf life (Ferreira et al., 2019), and TBARS assay results of chicken burgers  
274 treated with GTE during refrigerated storage (Table 2). The addition of GTE and storage  
275 periods affected ( $P < 0.05$ ) TBARS values in chicken burgers. At the beginning of storage,  
276 TBARS values were 0.21–0.73 mg MDA/kg sample and treatments with GTE had higher  
277 ( $P < 0.05$ ) TBARS values than the control. According to Wanasundara & Shahidi (1998),  
278 GTE can act as a pro-oxidant in marine oils due to its high chlorophyll content. This pro-  
279 oxidant effect of GTE was observed in mayonnaise (Gorji, Calingacion, Smyth, &  
280 Fitzgerald, 2019), however, further studies on meat processing are required. Results from  
281 this study suggested that GTE acted as a pro-oxidant at the beginning of the storage period  
282 of chicken burgers. A study by Gazzani, Papetti, Massolini, and Daglia (1998) explained  
283 that the components of vegetable juices showed an initial *in vitro* pro-oxidant activity,  
284 which decreased with time and became an antioxidant at the end of the juice-monitoring  
285 period. Thus, components of green tea used in this study had a similar effect, acting as a

286 pro-oxidant on day 0 of storage. However, from day 3 until storage ended, GTE acted as  
287 an antioxidant in treated chicken burgers (Table 2). In GT-0.5 and GT-1.0, the lowest ( $P$   
288  $< 0.05$ ) TBARS values were found on day 3 of storage (0.31 and 0.24 mg MDA/kg,  
289 respectively). In the control, the TBARS value was 0.81 mg MDA/kg sample on day 3 of  
290 storage and no significant differences were found until storage ended. Lipid oxidation of  
291 GTE-treated chicken burgers increased ( $P < 0.05$ ) on day 7 (0.80–0.97 mg MDA/kg).  
292 Also, TBARS values of 1.0% GTE reduced ( $P < 0.05$ ) at the end of storage compared  
293 with day 7. The final TBARS values of treatments were 0.68–1.08 mg MDA/kg sample,  
294 and the control showed higher ( $P < 0.05$ ) values than GT-0.5 and GT-1.0. By sensory  
295 analysis, all GTE-treated chicken burgers showed lower TBARS values than the threshold  
296 for off-flavor perception (1.0 mg MDA/kg) (McKenna et al., 2005). A study by Ferreira  
297 et al. (2019) also explained that TBARS values were lower than 1.0 mg MDA/kg during  
298 10-d storage of beef burgers with *Brosimum gaudichaudii* and *Pyrostegia venusta*  
299 extracts. Another study by Özvural, Huang, & Chikinidas (2016) applied different  
300 strategies of GTE addition on beef burgers (unencapsulated and encapsulated GTE and  
301 edible coatings with chitosan and GTE combined) and reported that it delayed lipid  
302 oxidation during storage. Also, the same study explained that a treatment, which was  
303 coated with chitosan and GTE showed higher TBARS values than the control on day 0,  
304 which is probably because of the same pro-oxidant effect observed in this study.

305

### 306 3.2.5. pH

307 The pH values of chicken burgers varied during refrigerated storage ( $P < 0.05$ ).  
308 At the beginning of storage, values were 5.81–5.83 (Table 2) and increased during storage  
309 ( $P < 0.05$ ). The addition of GTE promoted chicken burgers with higher ( $P < 0.05$ ) pH  
310 values on day 3 of storage compared with the control. However, the amount of GTE added

311 did not affect the values on this storage day. On day 7 of storage, the amount of GTE  
312 added affected ( $P < 0.05$ ) pH values, and GT-1.0 presented higher ( $P < 0.05$ ) values than  
313 others. A study by Nath, Kumar, Praveen and Ganguly (2016) and Al-Juhaimi et al.  
314 (2016), also related an increase in pH values of beef burgers with pistachio extracts and  
315 goat burgers with GTE addition, respectively, during the storage period. However, pH  
316 values recorded in this study during storage were considered normal for such meat  
317 products (raw) (Kuswandi & Nurfawaidi, 2017).

318

### 319 3.2.6. Instrumental color

320 The evolution of instrumental color parameters (lightness,  $L^*$ ; redness,  $a^*$ ;  
321 yellowness,  $b^*$ ; chroma,  $C^*$ ; and hue angle,  $h^\circ$ ) for chicken burgers with the addition of  
322 GTE during refrigerated storage is presented in Table 2. At the beginning of storage,  $L^*$   
323 values were 47.68–51.88, and the addition of 0.5% GTE promoted chicken burgers with  
324 lower ( $P < 0.05$ ) lightness. The storage period did not affect the ( $P > 0.05$ ) lightness  
325 values of the control; however, an increase ( $P < 0.05$ ) was observed following the addition  
326 of 0.5% GTE. Additionally, at the end of storage (10 d), treatments with the addition of  
327 GTE showed lower ( $P < 0.05$ ) lightness values than the control.

328 The addition of GTE impacted ( $P < 0.05$ ) redness ( $a^*$ ) values of chicken burgers  
329 during storage (Table 2). At the beginning of storage, values were 5.08–8.61; and GT-1.0  
330 showed lower ( $P < 0.05$ ) values compared with the control and GT-0.5. During storage,  
331 decreases in redness of chicken burgers may be due to the natural deterioration of the  
332 product, but the addition of GTE affected the loss of redness. In all treatments, redness  
333 values were stable until day 3 of storage (Table 2). However, in GT-0.5 and the control,  
334 the commencement of redness reduction was observed on day 7 while in GT-1.0 the  
335 values decreased only on day 10. At the end of storage, the control had higher ( $P < 0.05$ )

336  $a^*$  values than others (GT-0.5 and GT-1.0). Also, GT-0.5 had higher ( $P < 0.05$ )  $a^*$  values  
337 compared with GT-1.0 showing that the amount of GTE added impacted the redness  
338 attribute.

339 For yellowness ( $b^*$ ), no significant differences were observed between treatments  
340 at the beginning of storage (19.82–21.99) (Table 2). However, the storage period  
341 decreased ( $P < 0.05$ ) yellowness in all treatments, and on day 10, the control had higher  
342 ( $P < 0.05$ ) values than GT-0.5 and GT-1.0. Regarding the  $C^*$  parameter, values were  
343 20.47–23.62 and 16.73–19.44 at the beginning and end of storage, respectively (Table 2).  
344 Hue angle ( $h^\circ$ ) values of chicken burgers with the addition of GTE were 68.61–75.67 at  
345 the beginning of storage. The hue angle and chroma value express color nuance and  
346 saturation, respectively (Voss, 1992), and these parameters are associated with the visual  
347 discoloration of meat since a large hue angle is associated with meat browning (Ghris,  
348 2007), less redness, and more yellowish color (Aroeira et al., 2017) and lower chroma  
349 values are associated with less color intensity (King, Shackelford, Kalchayanand, &  
350 Wheeler, 2012). According to King, Shackelford, Rodriguez, & Wheeler (2011) and  
351 Siripatrawan, & Noipha (2012), typical meat color deterioration caused by the oxidation  
352 of myoglobin led to higher  $L^*$  and lower  $a^*$ ,  $b^*$ , and  $C^*$ . Regarding the hue angle, higher  
353 values indicate lower color stability. In this study, the hue angle of GT-0.5 and the control  
354 were similar ( $P > 0.05$ ) on day 10 of storage, indicating that GTE stabilized discoloration  
355 in chicken burgers.

356 Other studies reported that the addition of natural plant extracts prevented the  
357 discoloration of meat products (Jo, Son, Son, & Byu, 2003; Schilling et al., 2018). Since  
358 lipid oxidation was similar in all treatments on day 7 and lower in GTE-treated chicken  
359 burgers on day 10 (Table 2), results of instrumental color characteristics in this study  
360 could be related to the greenish color of GTE and this was also noted by panelists involved

361 in sensory analysis (Table 4). Another study by Bouarab-Chibane et al. (2017), related  
362 greenish ground beef patties with GTE addition evidenced by lower  $a^*$  values compared  
363 to control. Instrumental color values are consistent with direct visual observation of  
364 photographs of different treatments of chicken burgers with GTE addition (Figure 2).

365

### 366 3.3. Microbiological properties

367 Mesophilic, psychrotrophic, Enterobacteriaceae, and Gram-positive cocci  
368 bacterial counts during the storage of chicken burgers with the addition of GTE are shown  
369 in Table 3. Differences in mesophilic counts were undetected at the beginning of storage  
370 ( $P > 0.05$ ). On day 3, counts of GT-1.0 (3.69 log CFU/g) were lower than GT-0.5 and the  
371 control (4.11 and 4.16 log CFU/g, respectively), therefore revealing that the addition of  
372 1.0% GTE exhibited antimicrobial effects. A study by Lorenzo, Sineiro, Amado, &  
373 Franco (2014) and Özvural, Huang & Chikinidas (2016), also revealed the antimicrobial  
374 effect of GTE on mesophilic bacteria in beef and pork burgers. As expected, the  
375 mesophilic bacterial count increased ( $P < 0.05$ ) during storage, and values were higher  
376 than 6 log CFU/g after 7 d. The initial psychrotrophic bacterial counts were 2.24–2.70 log  
377 CFU/g (Table 3). The storage period affected ( $P < 0.05$ ) the psychrotrophic count;  
378 however, on day 3, GT-1.0 showed lower bacterial counts than GT-0.5 and the control ( $P$   
379  $< 0.05$ ). At the end of storage, counts were between 6.37 and 6.79 log CFU/g. In relation  
380 to Enterobacteriaceae and Gram-positive cocci, bacterial counts were also lower at the  
381 beginning and day 3 of storage but increased from day 7 onward (Table 3). Studies have  
382 revealed that GTE possessed *in vitro* antimicrobial activity against coliforms and Gram-  
383 positive cocci (Thakur et al., 2016; Parvez et al., 2019), but this effect was not observed  
384 when applied to chicken burgers. From a microbiological perspective, chicken burgers  
385 would be suitable for consumption until day 3 of refrigerated storage. However, further

386 studies are required to elucidate the period of refrigerated storage when the bacteria count  
387 of chicken burgers exceeds the limits of 6 log CFU/g and 4 log CFU/g for mesophilic and  
388 Enterobacteriaceae, respectively (IMNRC, 2003).

389

#### 390 3.4. Sensory analysis

391 Results of sensory attributes evaluated on the first day after the production of  
392 chicken burgers with the addition of GTE are shown in Table 4. The addition of GTE did  
393 not affect the overall acceptability, flavor, taste, texture, and purchase intention ( $P >$   
394  $0.05$ ). However, the color was affected ( $P < 0.05$ ) following the addition of GTE. Color  
395 is an important attribute of meat products, which determines its acceptance by consumers  
396 (Renner, 2000). In this study, GT-1.0 recorded lower ( $P < 0.05$ ) scores (5.02) for color  
397 compared with the control (6.24). However, GT-0.5 did not show significant differences  
398 compared with other treatments for the color attribute. Color changes were also observed  
399 during the instrumental color analysis (Table 2) and were attributed to the greenish color  
400 of GTE.

401 Chicken burgers treated with GTE received scores above 7 for taste and texture  
402 parameters, which indicated that they were well accepted by panelists (Anzaldúa-  
403 Morales, 1994). Scores lower than 6 were observed for the overall acceptability and color  
404 parameters for all treatments, including the control. Probably, this is because Brazilian  
405 consumers are more used to beef than chicken burgers (Vessoni, Piaia, & Bernardi, 2019)  
406 and maybe expected for a reddish meat product. Regarding the purchase intention, values  
407 were 3.13–3.60, which means between “might or might not buy” and “probably would  
408 buy,” and no significant differences were found among treatments.



409           The evaluation of AI when developing new products is fundamental in predicting  
410 the product's performance in the consumer market. The AI of GTE-treated (GT-0.5 and  
411 GT-1.0) chicken burgers were 71.38% and 71.26%, respectively (Table 4). Although the  
412 control showed an AI value of 78.78%, all treatments showed values higher than 70%,  
413 indicating the commercial acceptance of the products (Santos et al., 2015).

414

#### 415 **4. Conclusion**

416           This study revealed that GTE is more active when 75% ethanol is used as a solvent  
417 for 15 min at 80°C, which is evidenced by higher total phenolic and flavonoid contents.  
418 The addition of GTE was effective to retard lipid oxidation as the addition of 0.5% GTE  
419 improved color stability in chicken burgers. Also, the addition of 0.5% GTE did not affect  
420 the sensory attributes compared with the control. However, all treatments showed similar  
421 levels of microbial growth during storage, revealing that the addition of GTE to chicken  
422 burgers did not prevent or delay microbial spoilage. Despite that, GTE can be a source of  
423 natural antioxidants and is an alternative to use in chicken burgers as biopreservative and  
424 levels of 0.5% already shown desirable results.

425

#### 426 **Acknowledgements**

427           The authors would like to thank CAPES for Rafael Sepúlveda Fonsêca Trevisan Passos  
428 scholarship. The authors are grateful for LAPESCA (Laboratório de Pescados e  
429 Cromatografia Aplicada) team and Leonardo Fonseca Maciel for its assistance.

430

#### 431 **References**

- 432 Al-Juhaimi, F., Adiamo, O. Q., Alsawmahi, O. N., Gahfoor, K., Sarker, M. Z. I., Ahmed, I. A.  
433 M., & Babiker, E. E. (2016). Effect of pistachio seed hull extracts on quality attributes of  
434 chicken burger. *CyTA- Journal of Food*, 15(1), 9-17.
- 435 Angiolillo, L., Conte, A., & Del Nobile, M. A. (2015). Technological strategies to produce  
436 functional meat burgers. *LWT – Food Science and Technology*, 62, 697-703.
- 437 Anzaldúa-Morales, A. (1994). *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica*.  
438 Zaragoza: Acribia.
- 439 Aroeira, C. N., Torres Filho, R. A., Fontes, P. R., Ramos, A. L. S., Gomide, L. A. M., Ladeira,  
440 M. M., & Ramos, E. M. (2017). Effect of freezing prior to aging on myoglobin redox forms  
441 and CIE color of beef from Nellore and Aberdeen Angus cattle. *Meat Science*, 125, 16-21.
- 442 Banerjee, S., & Chatterjee J. (2015). Efficient extraction strategies of tea (*Camellia sinensis*)  
443 biomolecules. *Journal of Food Science and Technology*, 52(6), 3158-3168.
- 444 Bellés, M., Alonso, V., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2019). Sulfite-free lamb Burger meat:  
445 antimicrobial and antioxidant properties of green tea and carvacrol. *Journal of the Science*  
446 *of Food and Agriculture*, 99, 464-472.
- 447 Bligh, E. G., & Dyer, W. J. A. (1959). Rapid method of total lipid extraction and purification.  
448 *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37,911–917. [https://doi.org/](https://doi.org/10.1139/o59-099)  
449 [10.1139/o59-099](https://doi.org/10.1139/o59-099)
- 450 Bouarab-Chibane, L., Ouled-Bouhedda, B., Leonard, L., Gemelas, L.; Bouajila, J., Ferhout, H.,  
451 Cottaz, A., Joly, C., Degraeve, P., & Oulahal, N. (2017). Preservation of fresh ground beef  
452 patties using plant extracts combined with a modified atmosphere packaging. *European*  
453 *Food Research and Technology*, 243, 1997-2007. [https://doi.org/10.1007/s00217-017-](https://doi.org/10.1007/s00217-017-2905-3)  
454 [2905-3](https://doi.org/10.1007/s00217-017-2905-3)
- 455 Bourne, M. C. (2002). *Food texture and viscosity: concept and measurement*. 2 ed. Academic  
456 Press: London, 2002. 416 p.
- 457 Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to  
458 Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie – Food Science*  
459 *and Technology*, 28(1), 25–30.
- 460 Brazil (2006). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51,  
461 de 29 de setembro de 2006. Regulamento Técnico de Atribuição de Aditivos, e seus limites  
462 das seguintes categorias de alimentos: Categoria 8: Carne e Produtos Cárneos. Brasília-DF.
- 463 Carochi, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Antioxidants: Reviewing the chemistry,  
464 food applications, legislation and role as preservatives. *Trends in Food Science and*  
465 *Technology*, 71, 107-120.
- 466 Carvalho, F. A. L., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba-Orellana, S., Mattar, J., Brnčić, S. R.,  
467 Barba, F. J., & Lorenzo, J. M. (2018). Replacement of meat by spinach on physicochemical  
468 and nutritional properties of chicken burgers. *Journal of Food Processing and*  
469 *Preservation*, 43(5).
- 470 Choe, J., Kim, G-W., & Kim, H-Y. (2019). Effects of green tea leaf, lotus leaf, and kimchi  
471 powders on quality characteristics of chicken liver sausages. *Journal of Animal Science*  
472 *and Technology*, 61(1), 28-34.
- 473 Colon, M., & Nerín, M. (2016). Synergic, antagonistic and additive interactions of green tea  
474 polyphenols. *European Food Research and Technology*, 242. 211-220.
- 475 Cunniff, P.A. (1998). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16th edition,  
476 Association of Official Analytical Chemists, Arlington.
- 477 Damodaran, S., Parkin, K. L., & Fennema, O. R. (2010). *Química de alimentos de Fennema* (4th  
478 ed.). São Paulo: Artmed.

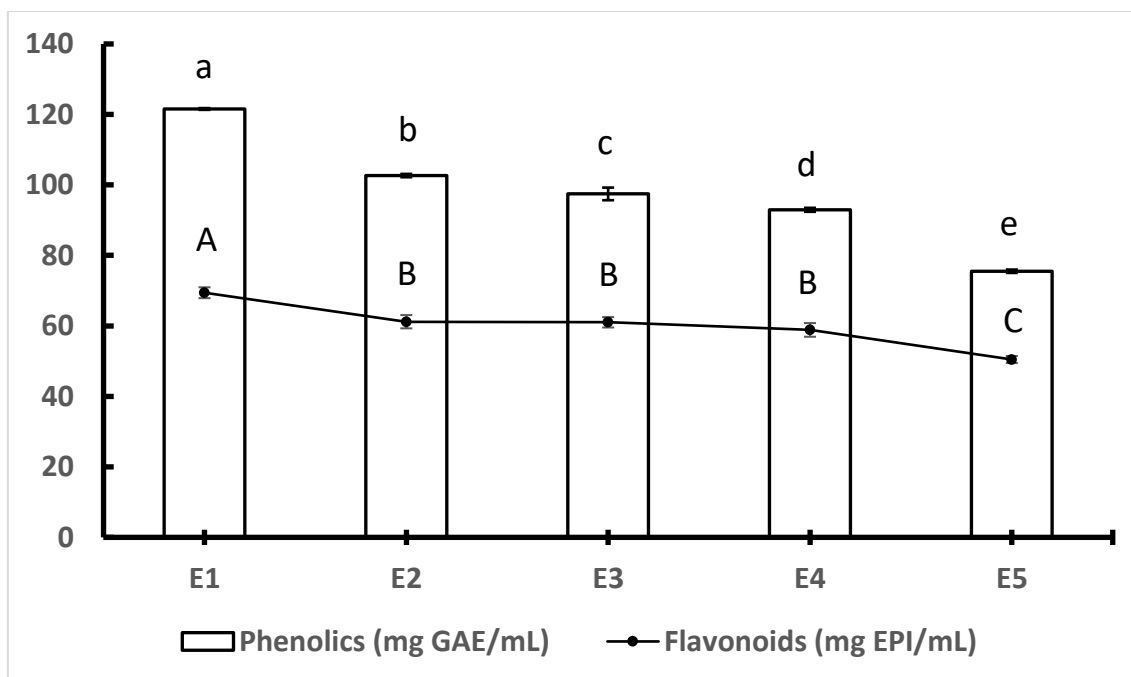
- 479 Devatkal, S. K., Thorat, P. R., Manjunatha, M., & Anurag, R. K. (2012). Comparative antioxidant  
480 effect of aqueous extracts of curry leaves, fenugreek leaves and butylated hydroxytoluene  
481 in raw chicken patties. *Journal of Food Science and Technology*, 49(6), 781-785.
- 482 Djeane, D., Gómez, D., Yangüela, J., Roncalés, P., & Ariño, A. (2019). Olive Leaves Extract  
483 from Algerian Oleaster (*Olea europaea* var. *sylvestris*) on Microbiological Safety and  
484 Shelf-life Stability of Raw Halal Minced Beef during Display. *Foods*, 8(10).
- 485 Dutcosky, S. D. (1996). *Análise Sensorial de Alimentos*. 20. ed. Curitiba: Editora Universitária  
486 Champagnat.
- 487 Elhadi, D. A. E., Elgasim, E. A., & Ahmed, I. A. M. (2016). Microbial and oxidation  
488 characteristics of refrigerated chicken patty incorporated with moringa (*Moringa oleifera*)  
489 leaf powder. *CyTA – Journal of Food*, 15(2), 234-240.
- 490 Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., & Suman, S. P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation  
491 interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86, 86-94.
- 492 Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Tonin, F. G., Pugine, S. M. P., Lima, C. G., Lorenzo, J. M.,  
493 & Melo, M. P. (2017). Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum*  
494 *vulgare* extract. *Food Chemistry*, 233, 101-109.
- 495 Ferreira, N. S. O., Rosset, M., Lima, G., Campelo, P. M. S., & Macedo, R. E. F. (2019). Effect of  
496 adding *Brosimum gaudichaudii* and *Pyrostegia venusta* hydroalcoholic extracts on the  
497 oxidative stability of beef burgers. *LWT – Food Science and Technology*, 108, 145-152.
- 498 Firuzi, M. R., Niakousari, M., Eskandari, M. H., Keramat, M., Gahruie, H. H., & Khaneghah, A.  
499 M. (2019). Incorporation of pomegranate juice concentrate and pomegranate rind powder  
500 extract to improve the oxidative stability of frankfurter during refrigerated storage. *LWT –*  
501 *Food Science and Technology*, 102, 237-245.
- 502 Franz, C. M. A. P., den Besten, H. M. W., Böhnlein, C., Gareis, M., Zwietering, M. H., & Fusco,  
503 V. (2018). Microbial safety in the 21st century: emerging challenges and foodborne  
504 pathogenic bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 81, 155-158.
- 505 Gazzani, G., Papetti, A., Massolini, G., & Daglia, M. (1998). Anti- and Prooxidant Activity of  
506 Water Soluble Components of Some Common Diet Vegetables and the Effect of Thermal  
507 Treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4118-4122.
- 508 Gorji, S. G., Calingacion, M., Smyth, H. E., & Fitzgerald, M. (2019). Effect of natural  
509 antioxidants on lipid oxidation in mayonnaise compared with BHA, the industry standard.  
510 *Metabolomics*, 15(8).
- 511 Ghris, S. Effect of the CO<sub>2</sub> Grinding on modified atmosphere and color shelf life of ground beef.  
512 Thesis, Clemson University, Clemson, SC, USA, 2007.
- 513 IMNRC. Institute of Medicine and National Research Council. (2003). *Scientific Criteria to*  
514 *Ensure Safe Food*. Washington, DC: The National Academies Press.
- 515 Instituto Adolfo Lutz (IAL). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2004). *Métodos*  
516 *químicos e físicos para análise de alimentos*. 4<sup>th</sup> ed., 1.
- 517 Jayawardana, B. C., Warnasooriya, V. B., Thotawattage, G. H., Dharmasena, V. A. K. I., &  
518 Liyanage, R. (2019). Black and Green Tea (*Camellia sinensis* L.) extracts as natural  
519 antioxidants in uncured pork sausages. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43,  
520 e13870, 1-8.
- 521 Jo, C., Son, J. H., Son, C. B., & Byun, M. W. (2003). Functional properties of raw and cooked  
522 pork patties with added irradiated, freeze-dried green tea leaf extract powder during storage  
523 at 4°C. *Meat Science*, 64, 13-17.
- 524 Jongberg, S., Terkelsen, L. S., Miklos, R., & Lund, M. N. (2015). Green tea extract impairs meat  
525 emulsion properties by disturbing protein disulfide cross-link. *Meat Science*, 100, 2-9.

- 526 Karakaya, M., Bayrak, E., & Ulusoy, K. (2011). Use of natural antioxidants in meat and meat  
527 products. *Journal of Food Science and Engineering*, 1, 1–10.
- 528 King, D. A.; Shackelford, S. D.; Kalchayanand, N.; Wheeler, T. L. (2012). Sampling and aging  
529 effects on beef longissimus color stability measurements. *Journal of Animal Science*, 90,  
530 3596-3605.
- 531 King, D. A., Shackelford, S. D., Rodriguez, A. B.; Wheeler, T. L. (2011). Effect of time of  
532 measurement on the relationship between metmyoglobin reducing activity and oxygen  
533 consumption to instrumental measures of beef longissimus color stability. *Meat Science*,  
534 87, 26-32.
- 535 Kuswandi, B., & Nurfawaidi, A. (2017). On-package dual sensors label based on pH indicators  
536 for real-time monitoring of beef freshness. *Food Control*, 82, 91-100.
- 537 Lorenzo, J. M., Sineiro, J., Amado, I. R., & Franco, D. (2014) Influence of natural extracts on the  
538 shelf life of modified atmosphere-packaged pork patties. *Meat Science*, 96, 526-534.
- 539 McKenna, D. R., Miles, P. D., Baird, B. E., Pfeiffer, K. D., Ellebracht, J. W., & Savell, J. W.  
540 (2005). Biochemical and physical factor affecting discoloration characteristics of 19 bovine  
541 muscles. *Meat Science*, 70, 665-682.
- 542 Mikhail, W. Z. A.; Sobhy, H. M., Khallaf, M. F., Ali, H. M. Z., El-askalany, S. A., & El-Din, M.  
543 M. E. (2014). Suggested treatments for processing high nutritive value chicken burger.  
544 *Annals of Agricultural Science*, 59(1), 41-45.
- 545 Mizi, L., Cofrades, S., Bou, R., Pintado, T., López-Caballero, M. E., Zaidi, F., & Jiménez-  
546 Colmenero, F. (2019). Antimicrobial and antioxidant effects of combined high-pressure  
547 processing and sage in beef burgers during prolonged chilled storage. *Innovative Food  
548 Science and Emerging Technologies*, 51, 32-40.
- 549 Nath, P. M., Kumar, V., Praveen, K. P., & Ganguly, S. (2016). A comparative study of green tea  
550 extract and rosemary extract on quality characteristics of chevon patties. *International  
551 Journal of Science, Environment and Technology*, 5(3), 1680-1688.
- 552 Özvural, E. B.; Huang, Q.; Chikinidas, M. L. (2016). The comparison of quality and  
553 microbiological characteristic of hamburger patties enriched with green tea extract using  
554 three techniques: Direct addition, edible coating and encapsulation. *LWT – Food Science  
555 and Technology*, 68, 385-390.
- 556 Parvez, M. A. K., Saha, K., Rahman, J., Munmun, R. A., Rahman, M. A., Dey, S. K., Rahman,  
557 M. S., Islam, S., & Shariare, M. H. (2019). Antibacterial activities of green tea crude  
558 extracts and synergistic effects of epigallocatechingallate (EGCG) with gentamicina  
559 against MDR pathogens. *Heliyon*, 5, e02126.
- 560 Pateiro, M., Lorenzo, J.M., Amado, I.R., & Franco, D. (2014). Effect of addition of green tea,  
561 chestnut and grape extract on the shelf-life of pig liver pâté. *Food Chemistry*, 147, 386-  
562 394.
- 563 Pereira, D., Pinheiro, R. S., Heldti, L. F. S., Moura, C., Bianchin, M., Almeida, J. F., Reis, A. S.,  
564 Ribeiro, I. S., Haminiuk, C. W. I., & Carpes, S. T. (2017). Rosemary as natural antioxidant  
565 to prevent oxidation in chicken burgers. *Food Science and Technology*, 37(1), 17-23.
- 566 Peryam, D. R., & Pilgrim, F. J. (1957). Hedonic scale method of measuring food preferences.  
567 *Food Technology*, 11, 9-14.
- 568 Price, A., Díaz, P., Bañón, S., & Garrido, M. D. (2013). Natural extracts versus sodium ascorbate  
569 to extend the shelf life of meat-based ready-to-eat meals. *Food Science and Technology  
570 International*, 19(5), 427-438.
- 571 Renerre, M. (2000). *Oxidative process and myoglobin in Antioxidants in muscle foods:  
572 Nutritional Strategies to Improve Quality*. (Decker, E., Faustman, C. and Lopez-Bote,  
573 C. J. eds.). p. 113-133. John Wiley & Sons, Inc. New York.

- 574 Ribeiro, J. S., Santos, M. J. M. C., Silva, L. K. R., Pereira, L. C. L., Santos, I. A., Lannes, S. C.S.,  
575 & Silva, M. V. (2019). Natural antioxidants used in meat products: A brief review. *Meat*  
576 *Science*, 148, 181-188.
- 577 Ryu, K. S., Shim, K. S., & Shin, D. (2014). Effect of Grape Pomace Powder Addition on TBARS  
578 and Color of Cooked Pork Sausages during Storage. *Korean Journal for Food Science of*  
579 *Animal Resources*, 34, 200-206.
- 580 Sahidi, F., & Zhong, Y. (2005). Bailey's industrial oil and fat products. John Wiley & Sons, New  
581 Jersey.
- 582 Santos, K. L., Sousa, F. M., Almeida, R. D., Gusmão, R. P., & Gusmão, T. A. S. (2019).  
583 Replacement of Fat by Natural Fibers in Chicken Burgers with Reduced Sodium Content.  
584 *The Open Food Science Journal*, 11, 1-8.
- 585 Santos, J. L., Santos, J. K., Santos, E. F., Sanches, F. L. F. Z., Manhani, M. R., & Novello, D.  
586 (2015) Sensorial and physicochemical qualities of pasta prepared with amaranth. *Acta*  
587 *Scientiarum. Health Sciences*, 37(1), 69.
- 588 Schilling, M. W., Pham, A. J., Williams, J. B., Xiong, Y. L., Dhowlaghar, N., Tolentino, A. C.,  
589 & Kin, S. (2018). Changes in the physicochemical, microbial, and sensory characteristics of  
590 fresh pork sausage containing rosemary and green tea extracts during retail display. *Meat*  
591 *Science*, 143, 199-209.
- 592 Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and  
593 other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods*  
594 *in Enzymology*, 299, 152–178 New York.
- 595 Siripatrawan, U., & Noipha, S. (2012). Active film from chitosan incorporating green tea extract  
596 for shelf life extension of pork sausages. *Food Hydrocolloids*, 27, 102-108.
- 597 Soltanizadeh, N., & Ghiasi-Esfahani, H. (2015). Qualitative improvement of low meat beef burger  
598 using *Aloe vera*. *Meat Science*, 99, 75-80.
- 599 Soncu, E. D., & Kolsarici, N. (2017). Microwave thawing and green tea extract efficiency for the  
600 formation of acrylamide throughout the production process of chicken burgers and chicken  
601 nuggets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97, 1790-1797.
- 602 Soquetta, M. B., Terra, L. M., & Bastos, C. P. (2018). Green Technologies for the extraction of  
603 bioactive compounds in fruits and vegetables. *CyTA – Journal of Food*, 16(1).
- 604 Taghvaei, M., & Jafari, S. M. (2013). Application and stability of natural antioxidants in edible  
605 oils in order to substitute synthetic additives. *Journal of Food Science and Technology*,  
606 52(3), 1272-1282.
- 607 Tang, G-Y., Zhao, C-N., Xu, X-Y., Gan, R-Y, Cao, S-Y, Liu, Q., Shang, A., Mao, Q-Q., & Li,  
608 H-B. (2019). Phytochemical Composition and Antioxidant Capacity of 30 Chinese Teas.  
609 *Antioxidants*, 8, 180.
- 610 Thakur, P., Chawla, R., Chakotiya, A. S., Tanwar, A., Goel, R., Nerula, A., Arora, R., & Sharma,  
611 R. K. (2016). *Camellia sinensis* Ameliorates the Efficacy of Last Line Antibiotics Against  
612 Carbapenem Resistant *Escherichia coli*. *Phytotherapy Research*, 30, 314-322.
- 613 Triki, M., Herrero, A. M., Rodríguez-Salas, L., Jiménez-Colmenero, F., Ruiz-Capillas, C. (2013).  
614 Chilled storage characteristics of low-fat, n-3, PUFA-enriched dry fermented sausage  
615 reformulated with a healthy oil combination stabilized in a konjac matrix. *Food Control*,  
616 31, 158-165.
- 617 Vessoni, N. G., Piaia, A. F., & Bernardi, D. M. (2019). Pesquisa de consumo de carne bovina,  
618 produtos cárneos, hambúrguer e alimentos funcionais. *Fag Journal of Health*, 1(4), 25-37.
- 619 Voss, D. H. (1992). Relating colorimeter measurement of plant color of the Royal Horticultural  
620 Society colour chart. *HortScience*, 27(12), 1256-1260.

- 621 Wanasundara, U. N., Shahidi, F. (1998) Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts  
622 in marine oils. *Food Chemistry*, 63(3), 335-342.
- 623 Xing, L., Zhang, H., Qi, R., Tsao, R., & Mine, Y. (2019). Recent Advances in the Understanding  
624 of the Health Benefits and Molecular Mechanisms Associated with Green Tea Polyphenols.  
625 *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(4), 1029-1043.
- 626 Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in  
627 mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-  
628 559.
- 629
- 630
- 631
- 632
- 633
- 634
- 635
- 636
- 637
- 638
- 639
- 640
- 641
- 642
- 643
- 644
- 645
- 646
- 647
- 648
- 649
- 650

651 Figure 1 - Total phenolic and total flavonoid contents of GTE.



652

653 Means  $\pm$  standard error. Different lowercase letters (a-e) show significant differences in  
 654 total phenolic content and different uppercase letters (A-C) show significant differences  
 655 in total flavonoid content ( $P < 0.05$ ). (E1- extraction with ethanol 75% for 15 min/80 °C;  
 656 E2- extraction with ethanol 75% for 30 min/60 °C; E3- extraction with ethanol 75% for  
 657 60 min/ 40 °C; E4- extraction with ethanol 75% for 24 hours/25 °C; E5- extraction with  
 658 distilled water for 5 min/100 °C).

659

660

661

662

663

664

665

666

667

668

669

670

671

672 Figure 2 - Visual observation of chicken burgers with GTE addition.



673

674

675

676

677

678

679

680

681

682

683

684

685

686

687

688

689

690



691 Table 1. Cooking yield, proximate composition and texture properties of chicken burgers  
 692 with GTE addition.

	Control	GT-0.5	GT-1.0
Cooking yield (%)	65.63 <sup>a</sup> ± 3.84	65.63 <sup>a</sup> ± 3.77	53.43 <sup>b</sup> ± 1.40
<b>Proximate composition (g/100g)</b>			
Moisture	71.78 <sup>a</sup> ± 0.16	71.43 <sup>a</sup> ± 0.75	71.74 <sup>a</sup> ± 2.16
Protein	16.86 <sup>a</sup> ± 0.35	16.52 <sup>a</sup> ± 0.21	16.49 <sup>a</sup> ± 0.01
Fat	7.91 <sup>a</sup> ± 0.00	7.86 <sup>a</sup> ± 1.32	9.81 <sup>a</sup> ± 1.04
Ash	1.12 <sup>a</sup> ± 0.01	1.65 <sup>a</sup> ± 0.16	1.34 <sup>a</sup> ± 0.22
Fiber	0.51 <sup>a</sup> ± 0.13	0.58 <sup>a</sup> ± 0.33	0.83 <sup>a</sup> ± 0.16
Energy value (kcal/100 g)	139.62	137.93	155.84
<b>Texture properties</b>			
Hardness (N)	23.54 <sup>a</sup> ± 0.98	21.79 <sup>a</sup> ± 1.84	15.12 <sup>b</sup> ± 1.62
Chewiness (N x mm)	16.24 <sup>a</sup> ± 1.01	15.35 <sup>a</sup> ± 1.38	11.15 <sup>b</sup> ± 1.03
Cohesiveness	0.75 <sup>c</sup> ± 0.16	0.78 <sup>b</sup> ± 0.10	0.81 <sup>a</sup> ± 0.16

693 Means ± standard error. Different letters (a-b) in the same row show significant  
 694 differences (P < 0.05).

695

696

697

698

699

700

701

702

703

704

705

706 Table 2. Lipid oxidation (mg MDA/kg), pH and instrumental color parameters of chicken  
 707 burgers with GTE addition during refrigerated storage.

Parameters		Days of storage			
		0	3	7	10
TBARS	Control	0.21 <sup>bB</sup> ± 0.12	0.81 <sup>aA</sup> ± 0.21	0.97 <sup>aA</sup> ± 0.08	1.08 <sup>aA</sup> ± 0.20
	GT-0.5	0.71 <sup>aA</sup> ± 0.07	0.31 <sup>bB</sup> ± 0.08	0.80 <sup>aA</sup> ± 0.10	0.68 <sup>aB</sup> ± 0.10
	GT-1.0	0.73 <sup>bA</sup> ± 0.04	0.24 <sup>cB</sup> ± 0.04	0.97 <sup>aA</sup> ± 0.03	0.69 <sup>bB</sup> ± 0.11
pH	Control	5.81 <sup>cA</sup> ± 0.17	5.84 <sup>bcB</sup> ± 0.26	5.85 <sup>abC</sup> ± 0.01	5.88 <sup>aB</sup> ± 0.03
	GT-0.5	5.83 <sup>bA</sup> ± 0.02	5.92 <sup>aA</sup> ± 0.02	5.88 <sup>aB</sup> ± 0.01	5.90 <sup>aAB</sup> ± 0.02
	GT-1.0	5.81 <sup>cA</sup> ± 0.01	5.92 <sup>abA</sup> ± 0.01	5.90 <sup>bA</sup> ± 0.01	5.95 <sup>aA</sup> ± 0.03
<i>L</i> *	Control	51.88 <sup>aA</sup> ± 0.73	53.43 <sup>abA</sup> ± 3.49	51.45 <sup>abA</sup> ± 2.28	54.53 <sup>aA</sup> ± 0.76
	GT-0.5	47.68 <sup>bB</sup> ± 1.95	47.28 <sup>bB</sup> ± 1.46	49.56 <sup>abAB</sup> ± 1.55	51.16 <sup>aB</sup> ± 0.61
	GT-1.0	51.32 <sup>abA</sup> ± 2.40	48.38 <sup>bB</sup> ± 1.01	48.64 <sup>bB</sup> ± 1.70	52.10 <sup>aB</sup> ± 2.11
<i>a</i> *	Control	8.61 <sup>aA</sup> ± 0.34	7.73 <sup>aA</sup> ± 1.58	7.52 <sup>abA</sup> ± 1.97	5.51 <sup>bA</sup> ± 0.57
	GT-0.5	7.85 <sup>aA</sup> ± 1.36	6.77 <sup>aAB</sup> ± 0.13	5.22 <sup>bB</sup> ± 1.00	4.45 <sup>bB</sup> ± 0.47
	GT-1.0	5.08 <sup>aB</sup> ± 0.81	5.42 <sup>aB</sup> ± 0.99	5.22 <sup>aB</sup> ± 0.82	3.43 <sup>bC</sup> ± 0.83
<i>b</i> *	Control	21.99 <sup>aA</sup> ± 0.72	20.27 <sup>abA</sup> ± 1.24	21.17 <sup>aA</sup> ± 1.63	18.63 <sup>bA</sup> ± 0.68
	GT-0.5	20.07 <sup>aA</sup> ± 2.12	19.58 <sup>abA</sup> ± 2.40	19.74 <sup>abA</sup> ± 2.07	16.83 <sup>bB</sup> ± 0.46
	GT-1.0	19.82 <sup>aA</sup> ± 0.75	19.51 <sup>aA</sup> ± 0.31	20.59 <sup>aA</sup> ± 1.03	16.36 <sup>bB</sup> ± 0.82
<i>C</i> *	Control	23.62 <sup>aA</sup> ± 0.68	21.61 <sup>abA</sup> ± 1.56	22.53 <sup>aA</sup> ± 1.86	19.44 <sup>bA</sup> ± 0.79
	GT-0.5	21.61 <sup>aAB</sup> ± 1.78	20.74 <sup>aA</sup> ± 2.21	20.43 <sup>aA</sup> ± 2.18	17.04 <sup>bB</sup> ± 1.33
	GT-1.0	20.47 <sup>aB</sup> ± 0.90	20.27 <sup>aA</sup> ± 0.22	21.26 <sup>aA</sup> ± 1.05	16.73 <sup>bB</sup> ± 0.90
<i>h</i> <sup>o</sup>	FC	68.61 <sup>aB</sup> ± 1.01	69.25 <sup>aA</sup> ± 3.31	70.57 <sup>aB</sup> ± 4.58	73.55 <sup>aB</sup> ± 1.18
	GT-0.5	68.46 <sup>bB</sup> ± 4.88	70.69 <sup>abA</sup> ± 2.80	75.23 <sup>aA</sup> ± 2.09	75.19 <sup>aB</sup> ± 1.53
	GT-1.0	75.67 <sup>aA</sup> ± 1.79	74.47 <sup>aA</sup> ± 2.86	75.76 <sup>aA</sup> ± 2.12	78.24 <sup>aA</sup> ± 2.55

708 Means ± standard error. Different lowercase letters (a-c) in the same row and different  
 709 uppercase letters (A-C) in the same column for the same parameter show significant  
 710 differences (P < 0.05).

711

712 Table 3 – Microbiological properties of chicken burgers with GTE addition during  
713 refrigerated storage.

Microorganisms		Days of storage			
		0	3	7	10
Mesophilic	Control	3.66 <sup>bA</sup> ± 0.18	4.11 <sup>bA</sup> ± 0.11	7.14 <sup>aAB</sup> ± 0.48	7.38 <sup>aB</sup> ± 0.21
	GT-0.5	3.51 <sup>cA</sup> ± 0.30	4.16 <sup>cA</sup> ± 0.16	7.41 <sup>bA</sup> ± 0.36	8.17 <sup>aA</sup> ± 0.14
	GT-1.0	3.63 <sup>cA</sup> ± 0.44	3.69 <sup>cB</sup> ± 0.28	6.49 <sup>bB</sup> ± 0.18	7.72 <sup>aAB</sup> ± 0.25
Psychrotrophic	Control	2.70 <sup>dA</sup> ± 0.04	4.57 <sup>cA</sup> ± 0.05	6.04 <sup>bA</sup> ± 0.09	6.58 <sup>aAB</sup> ± 0.06
	GT-0.5	2.30 <sup>dA</sup> ± 0.04	4.64 <sup>cA</sup> ± 0.01	5.95 <sup>bA</sup> ± 0.12	6.79 <sup>aA</sup> ± 0.09
	GT-1.0	2.24 <sup>dA</sup> ± 0.06	3.97 <sup>cB</sup> ± 0.11	5.93 <sup>bA</sup> ± 0.09	6.37 <sup>aB</sup> ± 0.07
Enterobacteriaceae	Control	2.90 <sup>cA</sup> ± 0.06	2.91 <sup>cAB</sup> ± 0.29	5.83 <sup>bA</sup> ± 0.08	6.42 <sup>aA</sup> ± 0.02
	GT-0.5	2.79 <sup>dA</sup> ± 0.06	3.21 <sup>cA</sup> ± 0.10	4.91 <sup>bB</sup> ± 0.11	6.43 <sup>aA</sup> ± 0.07
	GT-1.0	2.85 <sup>cA</sup> ± 0.05	2.71 <sup>cB</sup> ± 0.21	4.83 <sup>bB</sup> ± 0.25	6.53 <sup>aA</sup> ± 0.01
Gram-positive cocci	Control	1.73 <sup>cA</sup> ± 0.26	3.03 <sup>bA</sup> ± 0.29	5.38 <sup>aA</sup> ± 0.20	5.49 <sup>aA</sup> ± 0.18
	GT-0.5	1.08 <sup>cA</sup> ± 0.15	2.77 <sup>bA</sup> ± 0.27	4.82 <sup>aB</sup> ± 0.04	5.02 <sup>aA</sup> ± 0.03
	GT-1.0	1.75 <sup>dA</sup> ± 0.48	2.74 <sup>cA</sup> ± 0.38	3.77 <sup>bC</sup> ± 0.16	5.49 <sup>aA</sup> ± 0.43

714 Means ± standard error. Different lowercase letters (a-d) in the same row and different  
715 uppercase letters (A-B) in the same column for the same parameter show significant  
716 differences (P < 0.05).

717

718

719

720

721

722

723

724

725

726 Table 4. Sensory analysis of chicken burgers produced with GTE addition.

	Control	GT-0.5	GT-1.0
Overall acceptability	6.13 <sup>a</sup> ± 2.00	5.20 <sup>a</sup> ± 2.50	5.42 <sup>a</sup> ± 2.27
Color	6.24 <sup>a</sup> ± 1.90	5.15 <sup>ab</sup> ± 2.50	5.04 <sup>b</sup> ± 2.20
Flavor	7.33 <sup>a</sup> ± 1.50	6.75 <sup>a</sup> ± 1.70	7.02 <sup>a</sup> ± 1.80
Taste	7.91 <sup>a</sup> ± 1.40	7.40 <sup>a</sup> ± 1.90	7.33 <sup>a</sup> ± 1.70
Texture	7.84 <sup>a</sup> ± 1.60	7.62 <sup>a</sup> ± 1.80	7.26 <sup>a</sup> ± 1.70
Purchase Intention	3.60 <sup>a</sup> ± 1.13	3.13 <sup>a</sup> ± 1.12	3.20 <sup>a</sup> ± 1.09
A.I. (%)	78.78	71.38	71.26

727 Means ± standard error. Different letters (a-b) in the same row show significant  
 728 differences (P < 0.05). (A.I.- Acceptability index).

729