



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

LARISSA ALVES DELFINO

**OBTENÇÃO, CARACATERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DOS EXTRATOS DE
MORINGA E OSMARIN EM HAMBÚRGUER DE TILÁPIA**

LARANJEIRAS DO SUL - PR

2018



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

LARISSA ALVES DELFINO

**OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DOS EXTRATOS DE
MORINGA E OSMARIN EM HAMBÚRGUER DE TILÁPIA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Professora Orientadora: Eduarda Molardi Bainy

LARANJEIRAS DO SUL - PR

2018

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Delfino, Larissa Alves

OBTENÇÃO, CARACATERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DOS EXTRATOS DE MORINGA E OSMARIN EM HAMBÚRGUER DE TILÁPIA / Larissa Alves Delfino. -- 2018.

37 f.

Orientador: Doutora Eduarda Molardi Bainy.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Engenharia de Alimentos, Laranjeiras do Sul, PR , 2018.

1. Oxidação lipídica. 2. Antioxidantes. 3. Pescado.
4. Moringa. 5. Osmarin. I. Bainy, Eduarda Molardi,
orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III.
Título.

LARISSA ALVES DELFINO

**OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DOS EXTRATOS DE
MORINGA E OSMARIN EM HAMBÚRGUER DE TILÁPIA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Laranjeiras do Sul-PR.

Orientador: Professora Dr^a. Eduarda Molardi Bainy

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 10 / 12 / 2018

BANCA EXAMINADORA

Eduarda Bainy

Prof^a. Dr^a. Eduarda Molardi Bainy

Luciano Tormen

Prof. Dr. Luciano Tormen

Leide Graciela Blanco Mattje

MSc. Leide Graciela Blanco Mattje

AGRADECIMENTOS

À Deus por ser fiel em todos os momentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) e recursos concedidos pela Chamada Universal 2016 (processo: 404326/2016-1).

À Tilapia Brazilian Indústria e Comércio de Peixes pela doação de carne mecanicamente separada.

À Prof^a Dr^a Josimeire Leandrini pela identificação da Moringa.

Aos membros do painel sensorial, Fernanda A. Souza, Diogo J. Siqueira, Ellen Bernardi, Silvana da Costa e Silvia H. Tormen, por participarem e contribuírem com este trabalho.

À minha orientadora, Prof. Dr^a Eduarda Molardi Bainy, por se fazer presente e me incentivar em todos os momentos, pela paciência, orientação e amizade. Exemplo de profissional que eu levarei por toda a vida.

Ao prof^o Dr^o Luciano Tormen, pela doação do Osmarin, pelo apoio e auxílio com as análises químicas, pela amizade, dedicação, boas risadas, ensinamentos proporcionados no decorrer desse trabalho e por ter aceitado o convite de compor a banca examinadora.

À Leide Blanco Mattje pela doação da Moringa, por não medir esforços para contribuir com a elaboração desse trabalho e por ter aceitado o convite de compor a banca examinadora.

À Marina Silva e à Mabel Araújo pela ajuda nas análises de caracterização, sem vocês eu não conseguiria.

Aos meus pais, familiares, amigos e ao meu namorado por me proporcionarem suporte emocional e um amor incondicional.

A todos que compõem a Universidade Federal da Fronteira Sul, que direta ou indiretamente me auxiliaram durante a graduação.

Muito obrigada!

EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DOS EXTRATOS DE MORINGA E OSMARIN EM HAMBÚRGUER DE TILÁPIA

RESUMO

A fim de atender a demanda por alimentos mais saudáveis, os antioxidantes sintéticos utilizados em produtos à base de pescado têm sido substituídos por antioxidantes naturais. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ação antioxidante dos extratos de Moringa e Osmarin em hambúrguer de tilápia armazenado refrigerado ($4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 7 dias. Os extratos foram caracterizados com relação a capacidade de sequestro do radical DPPH, presença de compostos fenólicos e de compostos voláteis. Foi elaborado três formulações de hambúrguer de tilápia: Controle, com extrato de Moringa e com extrato de Osmarin. As análises realizadas nos produtos foram de pH, cor instrumental, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e análise sensorial com painel treinado. Com relação à caracterização, o extrato de Osmarin apresentou compostos voláteis e maior quantidade de compostos fenólicos, e conseqüentemente maior atividade antioxidante. Com relação aos hambúrgueres de tilápia, o pH se manteve estável e dentro da neutralidade durante o armazenamento. No entanto, as formulações contendo os extratos vegetais apresentaram maior intensidade de cor (maior croma) e maior formação de malonaldeído, quando comparadas à formulação Controle. Na análise sensorial, o atributo impressão global da amostra com Osmarin foi inferior as demais, devido ao sabor marcante proporcionado pelos compostos voláteis, típicos de óleos essenciais, presentes neste extrato. Portanto, será necessário realizar novos estudos de extração que permitam preservar os compostos antioxidantes presentes nos extratos e sua aplicação como antioxidante natural em hambúrguer de tilápia.

Palavras-chave: Oxidação lipídica, Antioxidantes, Pescado, Moringa, Osmarin.

ABSTRACT

In order to meet the demand for healthier foods, synthetic antioxidants used in fish products have been replaced with natural antioxidants. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the antioxidant action of Moringa and Osmarin extracts in refrigerated stored tilapia hamburger ($4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) for 7 days. The extracts were characterized in relation to the sequestration capacity of the DPPH radical, the presence of phenolic compounds and volatile compounds. Three formulations of tilapia burger were prepared: Control, with Moringa extract and Osmarin extract. The analyzes performed on the products were pH, instrumental color, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and sensorial analysis with a trained panel. Regarding the characterization, the extract of Osmarin showed volatile compounds and a greater quantity of phenolic compounds, and consequently greater antioxidant activity. With respect to tilapia burgers, the pH remained stable and within neutrality during storage. However, the formulations containing the plant extracts presented higher color intensity (greater chroma) and higher malonaldehyde formation when compared to the control formulation. With respect to tilapia hamburgers, the pH remained stable and within neutrality during storage. However, the formulations containing the plant extracts presented higher color intensity (greater chroma) and higher malonaldehyde formation when compared to the control formulation. In the sensorial analysis, the overall impression attribute of the sample with Osmarin was inferior to the others, due to the marked flavor provided by the volatile compounds, typical of essential oils, present in this extract. Therefore, it will be necessary to carry out new extraction studies to preserve the antioxidant compounds present in the extracts and their application as a natural antioxidant in tilapia hamburger

Key words: Oxidation lipid, Antioxidants, Fish, Moringa, Osmarin

Sumário

1) INTRODUÇÃO	7
2) MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1) MATERIAIS	9
2.2.1) Obtenção dos extratos	9
2.2.2) Caracterização dos extratos.....	10
2.2.2.1) Compostos fenólicos	10
2.2.2.2) Determinação da atividade antioxidante pelo sequestro do radical DPPH... 11	
2.2.2.3) Determinação de compostos voláteis.....	11
2.2.3) Elaboração do produto	12
2.2.4) Avaliação dos produtos.....	13
2.2.4.1) pH.....	13
2.2.4.2) Cor instrumental.....	14
2.2.4.3) Determinação da oxidação lipídica através de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	14
2.2.4.4) Análises microbiológicas	14
2.2.4.5) Análise Sensorial com painel treinado.....	15
2.2.5) Análise estatística.....	16
3) RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
3.1) Caracterização dos extratos.....	16
3.2) Avaliação dos hambúrgueres de Tilápia	19
4) CONCLUSÃO	26
5) REFERÊNCIAS.....	26

1 O trabalho foi formatado seguindo as normas para submissão de artigos científicos da
2 REBRAPA (Brazilian Journal of Food Research) presentes no Anexo I.

3 1) INTRODUÇÃO

4 O pescado destaca-se nutricionalmente de outros alimentos de origem animal, pois eles
5 apresentam, comparativamente, maiores quantidades de vitaminas lipossolúveis (A e D) e
6 minerais (cálcio, fósforo, ferro, cobre, selênio) (SARTORI; AMANCIO, 2012). Além disso, o
7 ômega-3 presente no pescado está associado a diversos benefícios à saúde, dentre eles, a
8 redução nos níveis de colesterol e incidência de doença cardíaca, acidente vascular cerebral
9 (AVC) e possivelmente doença de Alzheimer (BURGUER, 2008).

10 Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO,
11 2016) o consumo de peixe aumentou de uma média de 9,9 kg nos anos 60 para cerca de 20 kg
12 em 2015. Esse aumento significativo no consumo de pescado nas últimas décadas, pode estar
13 associado à atual demanda por produtos que tenham impacto positivo na saúde dos
14 consumidores (HASSOUN; ÇOBAN, 2017).

15 Apesar das vantagens nutricionais, o processamento e armazenamento do pescado acaba
16 sendo limitado devido sua rápida deterioração química e microbiológica (HASSOUN;
17 ÇOBAN, 2017). A oxidação lipídica é a reação química responsável, na maioria dos casos, pela
18 perda de frescor do produto (ARASHISAR *et al.*, 2004), afetando negativamente a qualidade
19 sensorial da carne, como cor, textura e sabor e valor nutricional (MORRISSEY; BUCKLEY,
20 1998), e influenciando diretamente na aceitação do consumidor (TORRES *et al.*, 1998). Essa
21 reação é resultante da interação entre os lipídios e o oxigênio e pode ser influenciada por
22 diferentes fatores, dentre estes, temperatura, luz, presença de metais de transição e atividade de
23 água (DAMODARAN *et al.*, 2010).

24 Para aumentar a estabilidade de produtos à base de pescado, é comumente empregado
25 antioxidantes sintéticos (MOHANAN *et al.*, 2018), estes atuam como agentes redutores, que

26 podem inibir a oxidação lipídica através da interação com os peróxidos ou suprimindo o
27 oxigênio singlete e quelantes de íons metálicos pró-oxidantes (CHAIYASIT *et al.*, 2007).
28 Dentre principais antioxidantes sintéticos utilizados pela indústria alimentícia encontram-se o
29 BHA (butil-hidroxi-anisol), BHT (butil-hidroxil-tolueno) e TBHQ (terc-butil-hidroquinona)
30 (TAKAMOTO *et al.*, 2009), que estão associados ao desenvolvimento de doenças cardíacas e
31 cancerígenas (MOHANAN *et al.*, 2018). Neste sentido, a utilização de aditivos sintéticos é
32 limitada através de legislações (BARLOW, 1990) e também leva ao aumento do
33 desenvolvimento de pesquisas por aditivos naturais que tenham efeito semelhante na inibição
34 da reação de oxidação, mas que não causem danos à saúde dos consumidores (KUNRATH *et*
35 *al.*, 2017).

36 Os extratos vegetais de fontes não convencionais têm sido estudados para a prevenção
37 da oxidação lipídica, no entanto, sua aplicação é um desafio porque depende do perfil de ácidos
38 graxos, presença de compostos voláteis e fenólicos, além de sua estrutura e funcionalidade
39 (CHOE; MIN, 2009). Dentre as fontes de extratos vegetais, encontram-se a Moringa (*Moringa*
40 *oleifera* Lam) e Osmarin (*Helichrysum italicum*).

41 Segundo o estudo de Kadhim e AL-Shammaa (2014) todas as partes da planta *M.*
42 *oleifera*, incluindo a folha, raiz, casca, semente, flor e vagem é comestível e contém compostos
43 que causam benefícios a saúde. Com relação à composição nutricional, as folhas Moringa
44 apresentam alto teor de vitaminas C e A, cálcio, potássio, ferro e proteínas (FALOWO *et al.*,
45 2018). Além de conter ácido ascórbico, elas apresentam flavonoides, compostos fenólicos e
46 carotenoides que atuam como antioxidantes naturais (NKUKWANA *et al.*, 2014). Nkukwana
47 *et al.* (2014) observou que ao aplicar 5% de folha fresca triturada de *M. oleifera* Lam em carne
48 de frango houve uma redução na oxidação lipídica durante o armazenamento sob refrigeração
49 dos cortes.

50 O Osmarin (*Helichrysum italicum*) é conhecido como um arbusto aromático anão (50-
51 70 cm de altura) que cresce em penhascos secos e solo arenoso (MASTELIC *et al.*, 2008). Seu
52 óleo apresenta diversas propriedades biológicas, dentre estas, age como um anti-inflamatório,
53 antialérgico, antibacteriano, antifúngico, antioxidante e antiviral (IVANOVIC *et al.*, 2011)

54 Apesar de já existirem estudos que comprovem a existência de compostos antioxidantes
55 presentes na Moringa (*Moringa oleifera* Lam) e no Osmarin (*Helichrysum italicum*), a obtenção
56 de extratos e de óleo e suas aplicações em produtos alimentícios ainda é escasso, limitando o
57 conhecimento de suas contribuições na tecnologia de alimentos. Neste sentido, o objetivo do
58 presente trabalho foi obter, caracterizar e avaliar o potencial antioxidante dos extratos de
59 Moringa (*Moringa oleifera* Lam) e Osmarin (*Helichrysum italicum*) em hambúrguer de Tilápia
60 (*Oreochromis niloticus*).

61 **2) MATERIAL E MÉTODOS**

62 **2.1) MATERIAIS**

63 A carne mecanicamente separada (CMS) das aparas do corte “V” de tilápia do Nilo
64 (*Oreochromis niloticus*) foi adquirida por doação de um frigorífico de tilápia (Tilapia Brazilian,
65 Toledo, PR) localizado na região oeste do Paraná. As folhas de Moringa (*Moringa oleifera*
66 Lam) e de Osmarin (*Helichrysum italicum*) foram obtidas de um produtor da região oeste e
67 centro-sul do Paraná, respectivamente. Os demais ingredientes foram adquiridos no comércio
68 local.

69 **2.2) MÉTODOS**

70 **2.2.1) Obtenção dos extratos**

71 As folhas de Moringa (*Moringa oleifera* Lam) e a parte aérea do Osmarin (*Helichrysum*

72 *italicum*) foram inicialmente selecionadas e a massa foi medida. As folhas foram lavadas em
73 água corrente. Em seguida foram levadas para estufa com circulação de ar forçada à 50°C, até
74 obter massa constante. As folhas secas foram trituradas em processador de alimentos,
75 armazenadas em embalagem de polietileno à vácuo e mantidas sob congelamento em
76 ultrafreezer vertical à -80°C.

77 A obtenção dos extratos foi realizada com hexano utilizando o extrator Soxhlet. A
78 proporção utilizada de folhas em relação ao solvente foi de 1:10, respectivamente e o tempo de
79 extração foi de 6 horas. O excesso de solvente foi removido em rotaevaporador, e em seguida
80 as amostras foram submetidas a um fluxo de nitrogênio para remover o restante do solvente,
81 até se obter massa constante. Os extratos foram redissolvidos em óleo de girassol na proporção
82 1:10, respectivamente. Os mesmos foram mantidos à -18°C em frascos envoltos com papel
83 alumínio até sua utilização.

84 **2.2.2) Caracterização dos extratos**

85 **2.2.2.1) Compostos fenólicos**

86 A determinação dos compostos fenólicos foi realizada com base no método de *Folin-*
87 *Ciocauteau*, de acordo com a metodologia proposta por Minussi *et al.* (2003). Foi medido 1,25
88 g da amostra em frasco de polipropileno de 50 mL, adicionado 20 mL de etanol 50% (v/v) e
89 homogeneizado em vortex por 2 minutos. A mistura foi centrifugada por 5 minutos a 5000 rpm
90 e uma alíquota de 0,50 mL desse extrato foi transferida para um balão de 25 mL protegido da
91 luz (envoltos em papel alumínio). Foi adicionado nos balões sobre o extrato da amostra 3 mL
92 de água destilada, 4 mL de solução de *Folin-Ciocauteau* 10% (v/v) e, entre 30 segundos a 8
93 minutos, foram adicionados 2 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% (m/v). O volume
94 foi complementado com água destilada e a mistura homogeneizada. Os frascos foram mantidos
95 em repouso, na ausência de luz, por 2 h e posteriormente foi realizada a leitura em

96 espectrofotômetro em comprimento de onda de 765 nm descontando o valor do branco de cada
97 medida. Uma curva padrão foi realizada com ácido gálico nas concentrações de 0; 0,2; 0,5; 1,0;
98 2,5 e 5,0 mg de AG/L. Os resultados foram expressos em mg AG / 100 g de amostra.

99 **2.2.2.2) Determinação da atividade antioxidante pelo sequestro do radical**

100 **DPPH**

101 Para determinação da capacidade de sequestro do radical DPPH, foi utilizado a
102 metodologia baseado na Captura do Radical Livre, descrito por Rufino *et al.* (2007). Uma
103 solução de DPPH na concentração de 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi preparada. Uma solução controle foi
104 preparada em triplicata, contendo 3,9 mL de acetona e 0,1 mL da solução estoque de DPPH,
105 cuja absorbância foi lida em 516 nm. Para mensurar a atividade antioxidante das amostras foram
106 preparadas duas diluições do extrato de Osmarin e do extrato de Moringa em acetona. Alíquotas
107 de 0,1 mL do extrato e de suas diluições foram transferidas para tubos de polipropileno junto
108 com 3,9 mL da solução estoque de DPPH (em duplicata). As soluções foram homogeneizadas
109 e acompanhada a variação de absorbância das soluções em 516 nm com o tempo até que não
110 variasse mais. Após o tempo necessário para que a reação ocorresse, foi medida a absorbância
111 das demais soluções. Uma curva padrão de DPPH nas concentrações de 0; 5; 10; 20; 40; 60
112 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi analisada. A atividade antioxidante foi expressa como sendo a massa de amostra
113 necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (EC_{50}) em g de amostra
114 por g de DPPH (Rufino *et al.*, 2007).

115 **2.2.2.3) Determinação de compostos voláteis.**

116 Para a análise cromatográfica, foi medida a massa entre 13 e 20 mg de cada extrato e esta
117 foi diluída para 10 mL com n-hexano. Com o uso de uma microseringa foi injetado no
118 cromatógrafo 2 μL de cada solução. Foi utilizado cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro

119 de massas (GC MS-QP2010 ULTRA, SHIMADZU) no modo *Splitless*, com temperatura do
120 injetor, fonte de íons e interface a 250°C, usando hélio como gás de arraste. O cromatograma
121 das amostras foi obtido variando a temperatura do forno de seguinte maneira: temperatura
122 inicial de 60°C e mantida por 2 minutos, aumento numa taxa de 4°C/min até 120°C e aumento
123 numa taxa de 10°C/min até 250°C permanecendo nesta temperatura por 5 minutos. Foi utilizada
124 coluna NST 05 MS (5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano) de 30 m de comprimento, 0,25 mm
125 de diâmetro interno e espessura de fase estacionária de 0,25 µm. A identificação dos
126 constituintes químicos foi realizada através da análise comparativa do espectro de massa das
127 substâncias com Biblioteca do sistema CG-MS (Nist 08, Nist 08s, Nist 11, Nist 11s).

128 **2.2.3) Elaboração do produto**

129 Os hambúrgueres de tilápia foram preparados com 90% de carne mecanicamente
130 separada (CMS) de aparas de filé, 1% de sal, 0,9% de condimentos, 3% de amido de milho e
131 1,1% de água mineral. As formulações contendo os extratos de Moringa e Osmarin, foi utilizado
132 3,8% de óleo de girassol e 0,2% dos extratos, já a formulação Controle foi elaborada com 4%
133 de óleo de girassol. As três formulações estão expressas na Tabela 1. As concentrações dos
134 extratos nos hambúrgueres de tilápia foram determinadas a partir de análises sensoriais
135 preliminares com um painel treinado, sendo estabelecidas como a máxima concentração
136 possível que não interferiu na aceitação sensorial dos produtos.

137 Os hambúrgueres foram preparados em três bateladas distintas. Os ingredientes foram
138 medidos em balança analítica e a homogeneização com a CMS foi realizada manualmente. Em
139 seguida, 10 g da massa foi medida e moldada manualmente em formato de hambúrguer. Os
140 hambúrgueres foram armazenados em embalagem de polietileno de baixa densidade e mantidos
141 sob refrigeração a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ por até 7 dias. Para realização das análises, foi realizada a mistura
142 de três hambúrgueres elaborados em bateladas diferentes.

143

144 **Tabela 1:** Formulações de hambúrgueres de tilápia com diferentes extratos vegetais.

Ingredientes	Controle (%)	Moringa (%)	Osmarin (%)
CMS-V	90	90	90
Sal	1	1	1
Pimenta do Reino	0,1	0,1	0,1
Cebola desidratada	0,5	0,5	0,5
Alho desidratado	0,3	0,3	0,3
Amido de Milho	3	3	3
Água Gelada	1,1	1,1	1,1
Óleo de Girassol	4	3,8	3,8
Extrato de Moringa	-	0,2	-
Extrato de Osmarin	-	-	0,2

145

146 A determinação de pH, cor instrumental, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
 147 (TBARS) e análises microbiológicas foram realizadas com o produto cru. Para a avaliação
 148 sensorial, os produtos foram assados. A determinação de pH e substâncias reativas ao ácido
 149 tiobarbitúrico foram realizadas nos tempos 1, 3, 5 e 7 dias, enquanto as demais (cor
 150 instrumental, análise microbiológica e sensorial com painel treinado) foi realizada no tempo 1
 151 e 7 dias de armazenamento refrigerado. O tempo 1 de armazenamento refere-se a 24 horas após
 152 o preparo das amostras.

153

2.2.4) Avaliação dos produtos

154

2.2.4.1) pH

155 O pHmetro de bancada (HI2221, HANNA instruments) foi previamente calibrado.
156 Então, foi realizada a homogeneização de 5 g de amostra em 50 mL de água destilada, durante
157 2 min, e em seguida foi realizada as medidas de pH, como descrito pelo Instituto Adolfo Lutz
158 (IAL, 2008).

159 **2.2.4.2) Cor instrumental**

160 A cor foi medida nas superfícies dos hambúrgueres crus com colorímetro portátil
161 (KONICA MINOLTA OPTICS INC., CHROMA METER CR-400/410), previamente
162 calibrado com placa de porcelana branca. Foi utilizada a escala CIE L*C*h, na qual o
163 componente L* representa luminosidade, croma (C*) a intensidade da cor e o ângulo *hue*
164 representa a tonalidade das diferentes cores existentes.

165 **2.2.4.3) Determinação da oxidação lipídica através de substâncias reativas ao** 166 **ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

167 Foi transferida 1,0 g da amostra para um tubo de polipropileno com 5,0 mL de cloreto
168 de potássio 1% (m/v). A mistura foi homogeneizada em vortex por 2 min e centrifugada por 20
169 min a 5000 rpm. Uma alíquota de 1,0 mL do sobrenadante foi transferida para outro tubo de
170 polipropileno com 250 µL de ácido tricloroacético 30% (m/v), 500 µl de ácido tiobarbitúrico
171 0,8% (m/v) e água destilada suficiente para completar o volume final de 2,0 mL. Após a adição
172 dos componentes, a mistura foi homogeneizada em vortex por dois minutos. Os tubos foram
173 aquecidos em banho-maria fervente por 30 min e decorrido esse tempo foi adicionado sobre a
174 mistura 5,0 mL de 1-butanol. A mistura foi homogeneizada em vortex durante 2 min e
175 centrifugada a 5000 rpm durante 20 min. A absorbância da fase orgânica foi medida em
176 espectrofotômetro em comprimento de onda de 535 nm.

177 **2.2.4.4) Análises microbiológicas**

178 Foram realizadas as análises microbiológicas para os hambúrgueres de tilápia conforme
179 exigido na resolução RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência de Vigilância Sanitária
180 (ANVISA) (BRASIL, 2001), para produtos à base de pescado refrigerados ou congelados.
181 Foram realizadas as análises de contagem de coliformes a 45°C (AFNOR 01/2-09/89C),
182 *Estafilococos* coagulase positiva (APHA – 2001) e *Salmonella* sp. (ISO - 6579: 2002). Essas
183 análises foram realizadas pelo Laboratório A3Q, garantindo assim a segurança dos produtos
184 utilizados na análise sensorial com painel treinado.

185 **2.2.4.5) Análise Sensorial com painel treinado**

186 Após a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética com Seres Humanos (CAAE:
187 85954318.0.0000.5564) foi realizada a análise sensorial. O painel treinado foi composto por
188 cinco avaliadores, que foram treinados conforme descrito por MESSIAS *et al.* (2016), que
189 avaliaram os parâmetros cor, odor, sabor e impressão global dos hambúrgueres nos tempos
190 estabelecidos. Para isso foi utilizada uma escala estruturada verbal descrita por Ozogul *et al.*
191 (2010) adaptada para 5 pontos, variando de 5 “qualidade muito boa”, 4 “qualidade boa”, 3
192 “qualidade aceitável”, 2 “qualidade ruim” ou 1 “qualidade inaceitável”. Os parâmetros
193 avaliados foram previamente definidos, visto que indicam possíveis alterações sensoriais dos
194 produtos devido à oxidação lipídica. Os hambúrgueres foram assados a 180°C em forno de
195 convecção forçada de ar (C20, PRÁTICA TECHNICOOK), pré-aquecido a 180°C por 10
196 minutos, até atingir a temperatura central de 75°C (aproximadamente 8 minutos), controlada
197 com um termômetro digital. As amostras (10 g) do tempo inicial e final do experimento foram
198 dispostas em bandejas de cor branca codificadas com números aleatórios de 3 dígitos. Foi
199 realizado uma repetição do experimento, e a média das duas avaliações foi obtida para cada
200 formulação. O painel foi instruído a limpar o paladar com água a temperatura ambiente e
201 biscoito água e sal entre as amostras.

202 **2.2.5) Análise estatística**

203 Os dados do DPPH e de compostos fenólicos dos extratos foram submetidos a análise
204 de variância (ANOVA) univariada para determinar diferenças significativas com 95% de
205 significância ($p < 0,05$) e foram apresentados como média \pm desvio padrão da média. Com
206 relação aos dados dos hambúrgueres de tilápia, os efeitos da formulação (F), tempo de
207 armazenamento (ST) e a interação dos fatores (F x ST) nas variáveis estudadas foram analisados
208 por ANOVA com 95% de significância ($p < 0,05$). Quando não houve diferença significativa
209 na interação F x ST, os resultados foram expressos com a média \pm desvio padrão da média dos
210 fatores, F e ST. A comparação de médias foi realizada pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$), quando
211 F e / ou ST foram significativos ($p < 0,05$). A análise estatística foi realizada usando o software
212 gratuito Genes versão 1990.2017.61 desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa
213 (CRUZ, 2013).

214

215 **3) RESULTADOS E DISCUSSÃO**

216 3.1) Caracterização dos extratos

217 Na Tabela 2 estão apresentados os resultados da caracterização dos extratos de Moringa
218 e Osmarin, através da determinação de compostos fenólicos totais e capacidade de sequestro do
219 radical DPPH.

220 A amostra que apresentou maior presença de compostos fenólicos foi o extrato de
221 Osmarin, com 9,80 mg AG/g de amostra, já o extrato de Moringa apresentou um valor de 2,19
222 mg AG/g. Como os compostos fenólicos apresentam diferentes estruturas químicas, sua
223 quantificação é utilizada como parâmetro para atividade antioxidante (WILLIAMS *et al.*,
224 2004). Pérez *et al.* (2015) obteve $24,3 \pm 0,3$ mg AG/g de folha seca para o extrato de moringa

225 obtido com etanol 70%, resultado superior ao obtido no presente trabalho. Com relação ao
 226 Osmarin, foi obtido menor quantidade de compostos fenólicos no extrato do presente estudo
 227 que o obtido por Albayrak (2010) ao realizar a extração com metanol de diferentes espécies de
 228 *Helycrisum*, já que neste segundo a quantificação de compostos fenólicos variou de 66,74 a
 229 160,3 (mg AG/g de amostra).

230

231 **Tabela 2:** Resultados da quantificação de compostos fenólicos e da capacidade de sequestro
 232 do radical DPPH dos extratos de Moringa e Osmarin.

Amostra	Extrato de Moringa	Extrato de Osmarin
Compostos Fenólicos (mg de AG/g de amostra)	2,2 ± 0,1 ^b	9,8 ± 0,2 ^a
Capacidade de sequestro do radical DPPH (g de amostra / g DPPH)	689 ± 15 ^b	34 ± 5 ^b

233 Resultados são expressos como média ± desvio padrão da média. As médias com letras diferentes na
 234 mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras no Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.
 235

236 Com relação a atividade antioxidante, esta foi realizada pelo método de sequestro do
 237 radical DPPH, que é considerado um dos radicais mais utilizados para o ensaio de capacidade
 238 de eliminação de radicais livres (ARABSHAHI-DELOUEE; UROOJ, 2007). Nesse sentido,
 239 quanto menor o valor, maior a atividade antioxidante da amostra (PEREIRA *et al.*, 2012). Sendo
 240 assim, o extrato de Osmarin apresentou maior atividade antioxidante, já que apresentou uma
 241 atividade antioxidante de 34 ± 7 g de amostra/g de DPPH, enquanto para a Moringa obteve-se
 242 um resultado de 689 ± 22 g de amostra/g de DPPH. Esse resultado já era esperado, já que foi
 243 determinado maior quantidade de compostos fenólicos no extrato de Osmarin, que podem ser

244 considerados os responsáveis pela atividade antioxidante dos extratos (CASTELO-BRANCO;
245 TORRES, 2011).

246 A maioria dos estudos atuais indica que uma combinação de fitoquímicos e compostos
247 voláteis são responsáveis pela atividade antioxidante dos óleos e extratos vegetais, (RIMBAU;
248 RAVENTOS; MORENO, 2018). A análise cromatográfica indicou a ausência de compostos
249 voláteis no extrato de Moringa. Para o extrato de Osmarin foram identificados 12 compostos,
250 que estão mostrados na Tabela 3.

251 **Tabela 3:** Compostos voláteis presentes no extrato de Osmarin

Tempo de retenção (min)	Composto	Área (%)
9,24	Eucaliptol	26,5 ± 0,4
13,02	Cânfora	44,6 ± 0,1
13,82	Isoborneol	7,4 ± 0
14,44	Criptona	2,3 ± 0,2
21,07	β -Cariofileno	2,0 ± 0,1
21,33	α -Fameseno	0,8 ± 0
22,66	Naftaleno	1,4 ± 0
23,70	Óxido de Cariofileno	5,6 ± 0,1
24,12	Cubenol	0,2 ± 0
24,45	Tau-Cadinol	3,6 ± 0,1
24,96	α -Bisabolol	4,0 ± 0,1
29,47	Fitol	1,6 ± 0,2

252 Resultados são expressos como média \pm desvio padrão da Média para 95% de confiabilidade (n = 3), n =
253 número de repetições.

254

255 A maior percentagem foi a de Cânfora (44,6%), seguida de Eucaliptol (26,5%) e um
256 conteúdo relativamente alto de Borneol (acima de 7%) também foi observado. A Cânfora, o
257 Eucaliptol e o Borneol são conhecidos como monoterpenos bicíclicos, encontrados de maneira
258 significativa em óleos essenciais estão utilizados no processamento de alimentos, fragrâncias
259 e produtos farmacêuticos (SARIKURKCU *et al.*, 2018). São compostos odoríferos e
260 contribuem de maneira significativa para a presença de um aroma forte e agradável (LIU *et al.*,
261 2018). Além disso, o Óxido de Cariofileno e β -Cariofileno que apareceram em menor
262 quantidade no extrato do presente estudo, atuam como antioxidantes naturais (SALLEH *et al.*,
263 2015), auxiliando na estabilidade lipídica de produtos que sofrem peroxidação.

264 Os compostos voláteis encontrados na literatura do óleo essencial de Osmarin, se
265 diferiram do obtido no presente estudo, sendo que Conti *et al.* (2005) determinou maiores
266 porcentagens de α -Pinoeno, α - e γ -Curcumeno, enquanto Bianchini *et al.* (2001) determinou
267 maiores quantidades de α -Pinoeno e Acetato de Nerilo em seu estudo de óleo essencial de *H.*
268 *italicum*. Essa diferença pode estar relacionada, o tempo de colheita, fatores geográficos e
269 climáticos locais (FORTUNATO *et al.*, 2010) e o método de extração.

270 3.2) Avaliação dos hambúrgueres de Tilápia

271 Não foram observadas diferenças significativas nos valores de pH entre as formulações
272 de hambúrgueres de tilápia, ficando em torno de 6,45, indicando que não houve efeito da
273 formulação na estabilidade do pH. Porém, o pH sofreu influência somente do tempo de
274 armazenamento, apresentado na Tabela 4 como as médias das três formulações para cada
275 tempo. O valor de pH inicial foi de $6,5 \pm 0,1$, havendo uma diminuição gradativa até $6,4 \pm 0,1$
276 no sétimo dia de armazenamento, conforme mostrado na Tabela 4.

277

278

279 **Tabela 4:** Medidas de pH dos hambúrgueres de tilápia durante armazenamento refrigerado

Tempo de armazenamento (dias)	Medidas de pH
1	6,5±0,1 ^a
3	6,5±0,1 ^a
5	6,4±0,1 ^b
7	6,4±0,1 ^b

280 Resultados são expressos como média ± desvio padrão da média para 95% de confiabilidade (n = 3), n =
 281 número de repetições. ^{a-b} Letras diferentes e minúsculas na mesma coluna representam resultados diferentes pelo
 282 teste de Tukey (p < 0,05) durante o tempo de armazenamento.

283

284 Segundo Silva e Fernandes (2010) o estudo do pH de produtos oriundos de pescado tem
 285 importância significativa, já que seu valor está relacionado com o frescor do produto, e deve
 286 permanecer na faixa de neutralidade. O aumento do pH durante armazenamento pode estar
 287 associado com a degradação proteica que resulta na liberação de substâncias como amônia e
 288 outras aminas (OGAWA; MAIA, 1999). Como os valores de pH sofreram um decréscimo
 289 durante o armazenamento refrigerado para as formulações analisadas, os produtos
 290 permaneceram estáveis e aptos para consumo com relação a formação de compostos básicos.

291 Indo de encontro ao obtido no presente estudo, Larosa (2011) observou em seu estudo, que ao
 292 aplicar diferentes antioxidantes naturais (Orégano, Alecrim, Sálvia e Moringa) em hambúrguer
 293 de tilápia armazenado congelado por 120 dias, o pH diminuiu ao longo do tempo para todas as
 294 formulações elaboradas, com exceção do que continha Moringa e antioxidante sintético (Propil-
 295 galato). Na Tabela 5 estão expressas as medidas dos parâmetros de cor instrumental, que foram
 296 ângulo *hue* (H), croma (C*) e luminosidade (L*). Com relação aos valores do ângulo *hue* (cor
 297 observável/tonalidade) variaram entre 78,1 a 93,8 e não apresentou diferença entre as
 298 formulações e tempos estudados. Nota-se tendência de aumento nas médias das formulações
 299 no tempo final de armazenamento. Portanto, as três formulações sofreram um aumento na

300 tonalidade da superfície do hambúrguer de tilápia durante o armazenamento refrigerado, sendo
 301 que as formulações contendo extrato de Osmarin e a Controle, passaram de uma coloração
 302 amarelo-alaranjada para uma coloração mais amarela (mais próximo de 90°). E a formulação
 303 contendo extrato de Moringa, passou de amarelo para amarelo-esverdeado, como consequência
 304 da coloração do extrato. Esse aumento na tonalidade dos hambúrgueres pode estar associado a
 305 oxidação lipídica, que envolve uma série de reações complexas e difíceis de serem controladas
 306 (SHIMOKOMAKI; OLIVO, 2006).

307

308 **Tabela 5:** Medidas de cor instrumental (L*, C*, H) no tempo inicial e final de armazenamento
 309 refrigerado das diferentes formulações de hambúrgueres de Tilápia

Tempo de Armazenamento (dias)	Parâmetro	Formulações		
		Controle	Osmarin	Moringa
1	H	78,1±0 ^{aA}	82,8±0 ^{aA}	92,7±0,1 ^{aA}
	C*	15,6±0 ^{aA}	26,7±0,1 ^{bA}	44,1±0 ^{cA}
	L*	61,3±0,1 ^{aA}	52,5±0,1 ^{aA}	57,8±0 ^{aA}
7	H	87,5±0,2 ^{aA}	88,2±0,1 ^{aA}	93,8±0,1 ^{aA}
	C*	11,7±0,2 ^{aA}	22,4±0,3 ^{bA}	34,7±0,1 ^{cA}
	L*	60,6±0,1 ^{aA}	58,9±0,1 ^{aA}	55,8±0,2 ^{aA}

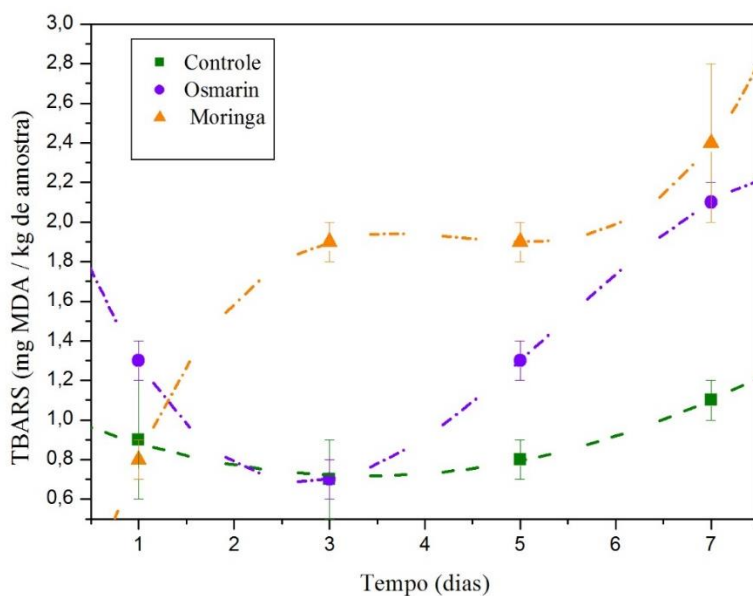
310 Resultados são expressos como média ± desvio padrão para 95% de confiabilidade (n = 3), n = número
 311 de repetições. ^{a-c} Letras diferentes e minúsculas na mesma linha representam resultados diferentes pelo teste de
 312 Tukey (p < 0,05) para as diferentes formulações. ^A Letra igual e maiúscula na mesma coluna representa resultados
 313 iguais pelo teste de Tukey (p < 0,05) durante o armazenamento.

314

315 Ao avaliar o parâmetro croma de forma isolada, foi possível observar que apenas o fator
 316 formulação teve influência sob seus resultados, obtendo as médias dos dois tempos estudados

317 de $13,7 \pm 1,2^c$, $24,6 \pm 1,4^b$ e $38,9 \pm 2,7^a$ para as formulações Controle, com extrato de Osmarin e
 318 com extrato de Moringa, respectivamente. Nesse sentido, ambas as formulações contendo
 319 extratos apresentaram coloração mais intensa que a formulação Controle, resultante da cor
 320 característica da matéria-prima dos extratos vegetais, indiferente do tempo empregado. Por fim,
 321 a luminosidade/brilho (L^*) variou de 52,5 a 61,3 e também não apresentou diferença entre as
 322 formulações e tempos avaliados. De modo geral, a formulação Controle apresentou tendência
 323 de uma coloração mais clara (menor L^*) do que as formulações com óleos vegetais.

324 Os resultados das medidas de determinação das substâncias reativas ao ácido
 325 tiobarbitúrico (TBARS) para as formulações de hambúrguer de tilápia estão expressos na
 326 Figura 1, pois houve interação significativa ($p < 0,05$) entre os fatores formulação e tempo.
 327



328

■ Controle $Y=1,079-0,215x + 0,03x^3 \mid R^2=0,994$

● Osmarin $Y=2,363-1,379x+0,338x^2-0,02x^3 \mid R^2=1$

▲ Moringa $Y=0,64+1,83x-0,424x^2+0,03x^3 \mid R^2=1$

329 **Figura 1:** Médias com os respectivos desvios padrões dos resultados de determinação das
 330 substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) para as formulações de hambúrguer de
 331 tilápia durante armazenamento refrigerado

332

333 A determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) quantifica o
334 malonaldeído formado no processo oxidativo dos alimentos devido a decomposição dos
335 hidroperóxidos dos ácidos graxos poli-insaturados, causando rancidez ao produto (OZOGUL
336 *et al.*, 2010).

337 No início do estudo, os valores foram $0,9 \pm 0,3$, $1,3 \pm 0,1$ e $0,8 \pm 0,1$ mg de MDA/kg de
338 amostra, para as formulações Controle, Osmarin e Moringa, respectivamente, mas não
339 apresentaram diferença significativa. Observou-se uma diminuição nos valores de TBARS no
340 terceiro dia para as formulações Controle e a formulação com extrato de Osmarin. O
341 hambúrguer contendo extrato de Moringa, houve um aumento significativo para $1,9 \pm 0,1$ mg
342 MDA/kg de amostra. Até o quinto e sétimo dia, houve um aumento progressivo para as três
343 formulações.

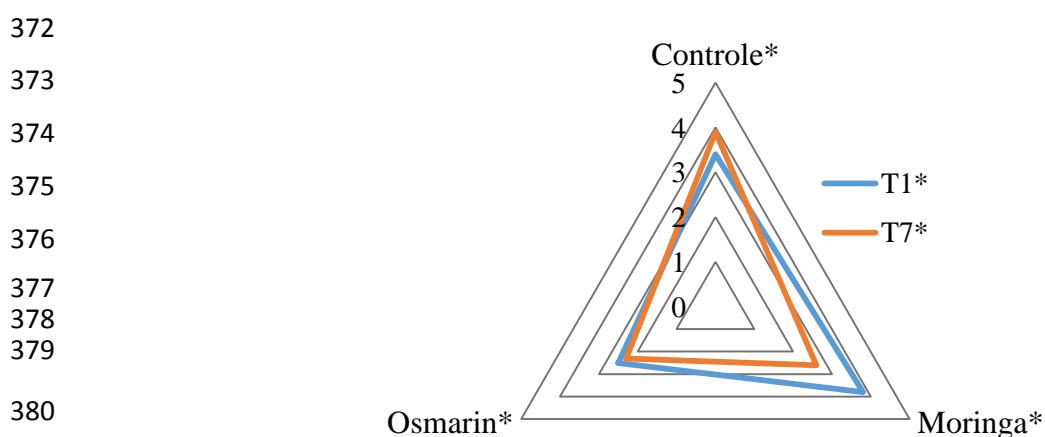
344 Apesar da formulação contendo extrato de moringa ter iniciado com uma carga de
345 malonaldeído menor no tempo inicial de armazenamento, seu aumento foi contínuo até o tempo
346 final. Como o extrato de Osmarin apresentou compostos voláteis e maior atividade antioxidante
347 que o extrato de Moringa, explicando o fato de que no terceiro dia de armazenamento, o
348 conteúdo lipídico dos hambúrgueres contendo Osmarin estavam mais estáveis que os
349 hambúrgueres com extrato de Moringa.

350 No entanto, no final do estudo, verificou-se que as três formulações não apresentaram
351 diferença significativa na oxidação lipídica, indicando que tanto o extrato de Moringa, quanto
352 o exgrato de Osmarin, não foram efetivos como antioxidantes naturais nas condições
353 estudadas. Choe e Min (2009) relataram que a aplicação de antioxidantes naturais é um desafio,
354 já que está relacionado com o perfil de ácidos graxos, presença de compostos voláteis e
355 fenólicos além da estrutura e funcionalidade dos antioxidantes presentes na matéria-prima
356 vegetal. Segundo Rimbau, Raventos e Moreno (2018), o processamento de alimentos pode
357 alterar a composição e estrutura dos compostos antioxidantes presentes. Além disso,

358 hambúrguer é um produto cárneo caracterizado como uma matriz complexa, com alta atividade
 359 de água (Mariutti *et al.*, 2008), conseqüentemente o extrato teve ação limitada e mais estudos
 360 são necessários.

361 Os resultados de coliformes a 45°C, Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella sp.*
 362 estavam conforme exigidos pela legislação brasileira e foram realizadas para viabilizar a análise
 363 sensorial. Dos atributos sensoriais avaliados com Painel Treinado (cor, odor, sabor e impressão
 364 global) apenas a “impressão global” apresentou interação dos fatores formulação e tempo,
 365 apresentado na Figura 2.

366 A formulação contendo Moringa apresentou maior média no tempo inicial de
 367 armazenamento refrigerado (T1), equivalente a “Qualidade boa” na escala utilizada, seguida
 368 pela formulação Controle com média entre “Qualidade aceitável” e “Qualidade boa”. No
 369 entanto, no tempo final de armazenamento refrigerado (T7) houve uma redução na impressão
 370 global do hambúrguer contendo Moringa, e aumento nas médias da formulação Controle e
 371 contendo o extrato de Osmarin, conforme apresentado na Figura 2.



381 * Indica diferença significativa entre as F ou os ST ($p < 0,05$).

382 **Figura 2** – Médias dos avaliadores com relação ao atributo “impressão global” para as
 383 formulações de hambúrguer de tilápia (Controle, Moringa, e Osmarin) durante armazenamento
 384 refrigerado

385

386 A Figura 3 apresenta os resultados dos demais atributos (cor, odor e sabor). Não houve
 387 diferença significativa entre as formulações e entre os tempos avaliados.

388

389

390

394

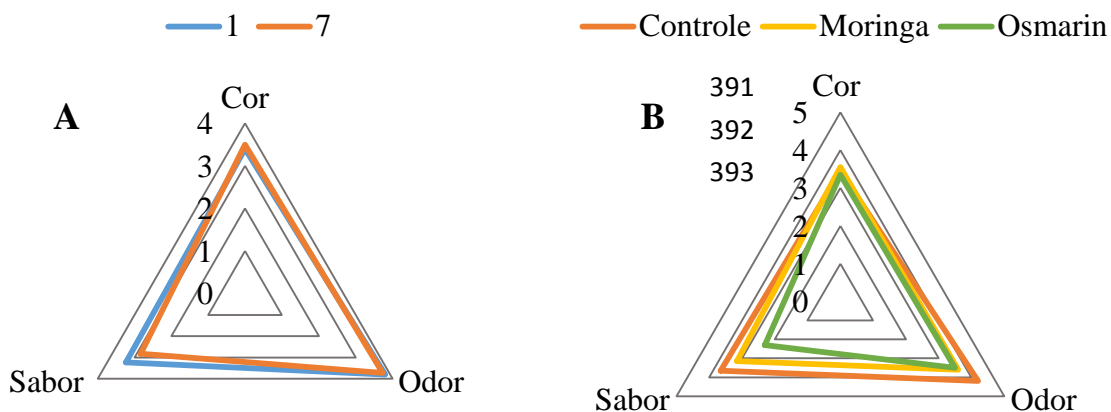
395

396

397

398

399



400 **Figura 3** – Resultado da Análise Sensorial com painel treinado relação aos atributos “cor”,
 401 “odor” e “sabor” para as formulações de hambúrguer de tilápia (Controle, Moringa, e Osmarin)
 402 durante armazenamento refrigerado. **A:** Avaliações sensoriais em função dos tempos de
 403 armazenamento, 1 e 7 dias; **B:** Avaliações sensoriais em função das formulações Controle, e
 404 com extratos de Moringa e Osmarin.

405

406 Porém, como observado para o atributo Sabor na Figura 3B, a formulação com Osmarin
 407 apresentou menor média (~2), considerado como "Qualidade ruim" na escala. Enquanto as
 408 formulações contendo extrato de Moringa e a Controle apresentaram médias próximas (~4) que
 409 é equivalente a "Qualidade boa". A presença de compostos voláteis presentes no extrato de
 410 Osmarin influenciou diretamente nos resultados, já que estes são responsáveis por conferir
 411 sabor e odor marcantes, interferindo no sabor do produto final e mascarando possíveis
 412 alterações sensoriais ocasionadas pela oxidação de lipídeos.

413

414

415

416 4) CONCLUSÃO

417 Os resultados encontrados no presente estudo demonstraram que o extrato de Osmarin
418 apresentou maior atividade antioxidante do que o extrato de Moringa, que está relacionado com
419 a presença de compostos voláteis e a maior concentração de compostos fenólicos. Com relação
420 à estabilidade lipídica dos hambúrgueres durante o armazenamento refrigerado, o pH se
421 manteve estável para as três formulações elaboradas, no entanto, os extratos vegetais alteraram
422 de maneira significativa a intensidade de cor (maior Cromo) nos hambúrgueres. Além disso, os
423 extratos vegetais de Moringa e Osmarin não foram eficientes em controlar a oxidação lipídica
424 do produto, devido ao aumento do valor de malonaldeído medido pela análise de TBARS.
425 Porém, o painel treinado não identificou alteração nos atributos cor, odor e sabor no tempo final
426 de armazenamento. Para estudos futuros, será necessário realizar novos estudos de extração que
427 permitam preservar os compostos presentes nos extratos, e também sua aplicação em produtos
428 alimentícios, de tal forma que possam ser utilizados em escala comercial a fim de substituir os
429 antioxidantes sintéticos.

430

431 5) REFERÊNCIAS

432 AFNOR Certificate Number 3M 01/2-09/89C.

433 ALBAYRAK, S.; AKSOY, A.; SAGDIC, O.; HAMZAOGLU, E. Compositions, antioxidant
434 and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. **Food**
435 **Chemistry**. Volume 119, Issue 1, Pages 114-122. 2010.

436 APHA American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Examination**
437 **of Foods**. 4^a ed. Washington, DC, 2001

- 438 ARABSHAHI-DELOUEE, S.; UROOJ, D. Antioxidant properties of various solvent extracts
439 of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. **Food Chemistry** Volume 102, Issue 4, Pages 1233-1240.
440 2007.
- 441 ARASHISAR, S. *et al.* Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on
442 microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets.
443 **International Journal of Food Microbiology**, v. 97, n. 2, p. 209–214, 2004.
- 444 BARLOW, S. M. Toxicological aspects of antioxidants used as food *additives*. Food
445 Antioxidants. p. 253-307: **Springer**. 1990.
- 446 BIANCHINI, A.; TOMI, P.; COSTA, J.; BERNARDINI, A. F. Composition of *Helichrysum*
447 *italicum* (Roth) G. Don fil. subsp. *italicum* essential oils from Corsica (France). **Flavour**
448 **Fragrance Journal**, 16, pp. 30-34. 2001.
- 449 BURGUER, J. Fishing, fish consumption, and awareness about warnings in a university
450 community in central New Jersey in 2007, and comparisons with 2004. **Environmental**
451 **Research**. V. 108, I. 1. Pages 107-116. 2008.
- 452 CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Total antioxidant capacity of edible vegetable
453 oils: chemical determinants and associations with oil quality. **Revista de Nutrição**, Volume 24.
454 Páginas: 173-187. 2011.
- 455 CHAIYASIT, W.; ELIAS, R. J.; MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Role of physical
456 structures in bulk oils on lipid oxidation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**,
457 47(3), Pages 299-317. 2007.
- 458 CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. **Comprehensive**
459 **Reviews in Food Science and Food Safety**, 8(4), 345-358. 2009
- 460 CONTI, F., BONACQUISTI, S.; ABBATE, G. An Annotated Checklist of the Italian Vascular
461 Flora. **Palombi Editore**, Roma. 2005

- 462 CRUZ, C. D. GENES - A software package for analysis in experimental statistics and
463 quantitative genetics. **Acta Scientiarum - Agronomy**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 271 – 276, 2013.
- 464 DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA O. R. **Química de Alimentos de Fennema**.
465 4. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 900. 2010.
- 466 EVERETTE, J. D. *et al.* Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward
467 the Folin-Ciocalteu Reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 14, p.
468 8139-8144, 2010.
- 469 FALOWO, A. B.; MUKUMBO, F. E.; IDAMOKORO, E. M.; LORENZO, J. M.;
470 AFOLAYAN, A. J.; MUCHENJE, V. Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam.
471 in nutrition and animal food products: A review. **Food Research International**. Volume 106,
472 Pages 317-334. 2018.
- 473 FAO (Food and Agriculture Organization). **Fisheries and Aquaculture topics**. Utilization and
474 Trade. Topics Fact Sheets. 2016.
- 475 FORTUNATO, I. M.; MONTEMURRO, I.; RUTA, C.; PERRINI R.; SABETTA, W.;
476 BLANCO, A.; LORUSSO, E.; AVATO, P. Essential oils, genetic relationships and *in*
477 *vitro* establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* from wild
478 Mediterranean germoplasm. **Industrial Crops and Products** 32. pp. 639-649. 2010.
- 479 HASSOUN, A.; ÇOBAN, O. E. Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in
480 fish and other seafood products. **Trends in Food Science & Technology**. Volume 68. Pages 26-
481 36. 2017.
- 482 INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**.
483 4^a ed., 1^a Ed. Digital, São Paulo: 2008.
- 484 ISO 6579:2002 - **Microbiology of food and animal feeding stuffs** – Horizontal method for
485 the detection of *Salmonella* spp. 2002.

- 486 IVANIVIC, J.; RISTIC, M.; SKALAA, D. Supercritical CO₂ extraction of *Helichrysum*
487 *italicum*: Influence of CO₂ density and moisture content of plant material. **The Journal of**
488 **Supercritical Fluids**. V. 57. Pages 129–136. 2011.
- 489 KADHIM, E. J.; AL-SHAMMAA, D. A. Phytochemical characterization using GC-MS
490 analysis of methanolic extract of *Moringa oleifera* (family Moringaceae) plant cultivated in
491 Iraq. **Chemistry and Materials Research**, 6, 9–26. 2014.
- 492 KHODDAMI, A.; WILKES, M. A.; ROBERTS, T. H. Techniques for analysis of plant phenolic
493 compounds. **Molecules**, v. 18, n. 2, p. 2328-75, 2013.
- 494 KUNRATH, C. A.; SAVOLDI, D. C.; MILESKI, J. P. F.; NOVELLO, C. R.; ALFARO, A.;
495 MARCHI, J. F.; TONIAL, I. B. Application and evaluation of propolis, the natural antioxidant
496 in Italian-type salami. **Brazilian Journal of Food Technology**, 20. 2017.
- 497 LAROSA, G. **Desenvolvimento de produto cárneo de tilápia com antioxidantes naturais**.
498 (Tese de doutorado). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara.
499 São Paulo. 2011.
- 500 LIU, Z.; DENG, B.; LI, S.; ZOU, Z. Optimization of solvent-free microwave assisted extraction
501 of essential oil from *Cinnamomum camphora* leaves. **Industrial Crops and Products** Volume
502 124. Pages 353-362. 2018
- 503 MARIUTTI, L. R. B.; VIBEKE, O.; BRAGAGNOLO, N.; SKIBSTED, L. H. Effect of sage
504 and garlic on lipid oxidation in high-pressure processed chicken meat. **European Food**
505 **Research and Technology**, [s. l.], v. 227, n. 2, p. 337 – 344, 2008.
- 506 MASTELIC, J.; POLITEO, O.; JERKOVIC, I. Contribution to the analysis of the essential oil
507 of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don-determination of ester bonded acids and phenols,
508 **Molecules** 13 Pages: 795–803. 2008.

- 509 MESSIAS, C. R. *et al.* Treinamento e caracterização sensorial de formulações de fishburguer
510 elaboradas à base de subprodutos da filetagem de tilápia. *Revista Brasileira de Pesquisa em*
511 *Alimentos - REBRAPA*, 2016.
- 512 MINUSSI, R. C.; ROSSI, M.; BOLOGNA, L.; CORDI, L.; ROTILIO, D.; PASTORE, G. M.;
513 DURÁN, N. Phenolic compounds and total antioxidante potential of comercial wines. **Food**
514 **Chemistry**, Oxon, v. 82, n. 3, p. 409-416, 2003.
- 515 MOHANAN, A.; NICKERSON, M. T.; GHOSH, S. Oxidative stability of flaxseed oil: Effect
516 of hydrophilic, hydrophobic and intermediate polarity antioxidants. **Food Chemistry**. Volume
517 266. Pages 524-533. 2018.
- 518 MORRISSEY, P. A.; BUCKLEY, D. J. Lipid stability in meat and meat products. **Meat**
519 **Science**. Vol 49. Supplment 1. Pages 73-86. 1998.
- 520 NKUKWANA, T. T., MUCHENJE, V., MASIKA, P. J., HOFFMAN, L. C., DZAMA, K., &
521 DESCALZO, A. M. Fatty acid composition and oxidative stability of breast meat from broiler
522 chickens supplemented with Moringa Oleifera leaf meal over a period of refrigeration. **Food**
523 **Chemistry**, 142, 255–261. 2014.
- 524 OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo:
525 Varela, v.1, 430p. 1999.
- 526 OZOGUL, Y.; AYAS, D.; YAZGAN, H.; OZOGUL, F.; BOGA, E. K.; OZYURT, G. The
527 capability of rosemary extract in preventing oxidation of fish lipid. **International Journal of**
528 **Food Science and Technology**. v. 45, n. 8, p. 1717 – 1723, 2010.
- 529 PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A; HERTZ, P. F.; RIOS, A. O.;
530 VIZZOTTO, M.; FLORES, S. H. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits
531 from the Myrtaceae family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 60, n. 12,
532 p. 3061 – 3067, 2012.

- 533 PÉREZ, R. C.; PINÉ, Q. R.; GUTIÉRREZ, F. A.; CARRETERO, S. A. Optimization of
534 extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam
535 leaves. **Industrial Crops and Products** V. 66 Pages. 246–254. 2015.
- 536 RIMBAU, A. T.; RAVENTOS, R. M. L.; MORENO, J. J. Polyphenols, food and pharma.
537 Current knowledge and directions for future research. **Biochemical Pharmacology**. Vol.156,
538 Pages 186-195. 2018.
- 539 RUFINO, M. S. M.; ALVES, R.E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-
540 JIMÉNES, J.; SAURA - CALIXTO, F. D.; Metodologia Científica: Determinação da atividade
541 antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Embrapa - Ministério da
542 agricultura, pecuária e abastecimento, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 1 – 3, 2007.
- 543 SALLEH W. M.; KAMMIL, M. F.; AHMAD, F. Antioxidant and anti-inflammatory activities
544 of essential oil and extracts of *Piper miniatum*. **Natural**
545 **Products Communications**, pp. 2005 – 2008. 2015.
- 546 SARTORI, A. G. O.; AMANCIO, R. D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil.
547 **Segurança Alimentar e Nutricional**. Campinas, 19(2): 83-93. 2012.
- 548 SARIKURKCU, C.; MEHMET, S. O.; NIMET, C.; DJORDJEVIC, J. P. Essential oil
549 composition and antioxidant activity of endemic *Marrubium parviflorum subsp. Oligodon*
550 **Industrial Crops and Products**.V. 119. Pages: 109-213. 2018
- 551 SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R. Suplementação de vitamina e melhora a qualidade de
552 carnes e derivados. Atualidades em ciência e tecnologia de carnes. São Paulo: **Varela**. cap. 11,
553 p. 115-121. 2006.
- 554 SILVA, S. R.; FERNANDES, E. C. S., Aproveitamento da Corvina (*Argyrosomus regius*) para
555 Elaboração de Fishburguer. **Cadeia do Pescado**. São Luís, v.17, n. 3, set/dez. 2010.
- 556 SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed.
557 São Paulo: Varela, 2010.

- 558 TAKAMOTO, E.; TEIXEIRA FILHO, J.; GODOY, H. D. Validação de metodologia para
559 determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras
560 hidrogenadas por CLAE/UV. **Química Nova**. São Paulo, v. 32, n. 5, p. 1189-1194, 2009.
- 561 TORRES, E. A. F. S.; RIMOLI, C. D.; OLIVO, R.; HATANO, M. K.; SHIMOKOMAKI, M.
562 Papel do sal iodado na oxidação lipídica em hambúrgueres bovino e suíno (misto) ou de frango.
563 **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Vol 18. N°1. Campinas. 1998.
- 564 WILLIAMS, R.J.; SPENCER, J.P.E.; RICE-EVANS, C. Flavonoids: antioxidants or signalling
565 molecules. **Free Radical**. 2014

ANEXO I

Normas para submissão de artigo científico da REBRAPA ((Brazilian Journal of Food Research)

Todas as páginas devem ser numeradas consecutivamente (canto inferior direito de cada página). A submissão deverá ser feita em arquivos do tipo DOC ou DOCX em formato A4. Para artigos submetidos em inglês ou espanhol, autores que não sejam fluentes na língua são encorajados a procurar ajuda na escrita do documento. Artigos submetidos em português devem ser redigidos em linguagem culta. Incorreções gramaticais levam inevitavelmente ao atraso no processo de avaliação e aceite do artigo.

Não incluir no manuscrito informações sobre os autores e suas respectivas filiações bem como e-mail de contato ou outros dados que possam identificar a autoria do trabalho. Tais informações serão incluídas no formulário de submissão e não serão enviadas para os avaliadores a fim de manter a revisão cega dos manuscritos.

Texto: deve ser utilizada a fonte Times New Roman tamanho 12 para o texto, parágrafos justificados com espaçamento duplo entre linhas. Todas as linhas do manuscrito devem ser numeradas consecutivamente utilizando o respectivo comando do editor de textos (*Layout de Página > Números de Linha > Contínuo*).

Para o processo de submissão, o manuscrito deve ser preparado na seguinte ordem:

- 1) Títulos do trabalho em português e inglês ou espanhol e inglês. O título (fonte tamanho 14) deve ser escrito de forma breve, concisa e clara e deve refletir de forma objetiva o tema do artigo;
- 2) Resumo na língua do manuscrito (máximo de 250 palavras). Este deve ser conciso, fornecendo o escopo do trabalho, objetivos, resultados significantes e conclusões.
- 3) Resumo em inglês, caso o manuscrito não seja escrito em inglês;
- 4) Palavras-chave (3 a 5) em português e inglês ou espanhol e inglês.

5) Texto principal. Será permitida alguma flexibilidade na apresentação do conteúdo, contudo deve ser respeitada uma sequência lógica (Introdução, Materiais e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusão, Agradecimentos, Referências).

Na elaboração do texto principal, os seguintes pontos devem ser respeitados:

- Deixar a margem esquerda, direita, superior e inferior de 2,5 cm.
- Incluir figuras e tabelas nos locais onde estas devem aparecer no artigo após a publicação. As figuras e tabelas devem ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos (Exemplo: Figura 1: ...; Tabela 1: ...). Evite duplicar informações apresentando-as simultaneamente em gráficos e tabelas. Os textos das legendas de tabelas e figuras devem refletir seu conteúdo e conter toda a informação necessária para o seu entendimento.
- Imagens não podem ser melhoradas durante o processo de editoração, por isso a qualidade final da imagem depende da qualidade das imagens fornecidas pelos autores. Utilize apenas gráficos e imagens sem cor (preto e branco ou escalas de cinza).
- É preferível que as figuras e tabelas tenham o tamanho de uma coluna de texto (largura de 7cm).
- Abreviações, siglas e símbolos devem ser claramente definidos na primeira vez em que aparecem no texto.
- Notas de rodapé não são permitidas.
- Equações devem ser geradas por programas apropriados e identificadas no texto com algarismos arábicos entre parêntesis na ordem em que aparecem.
- As citações bibliográficas inseridas no texto devem ser indicadas dependendo do número de autores. Artigos com um, dois ou três autores, citam-se os sobrenomes separados por ponto e vírgula seguidos do ano de publicação; artigos com quatro ou mais autores, cita-se o sobrenome do primeiro autor, seguido da expressão “*et al.*” em itálico seguido do ano de publicação; se o nome do autor não é conhecido, cita-se a fonte de origem.
- Toda a literatura citada ou indicada no texto deverá ser listada em ordem alfabética nas Referências. Artigos em preparação ou submetidos à avaliação não devem ser incluídos nas referências. A formatação das referências deve seguir o padrão exemplificado a seguir.

Livros:

SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. P. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas do cerrado**. Brasília: EMBRAPA, 2001.

Artigos:

LIMA, A.; SILVA, A. M. O.; TRINDADE, R. A.; TORRES, R. P.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695-967, 2007.

Teses, Dissertações, Monografias e Trabalhos de Conclusão de Curso:

LEIMANN, F. V. **Nanopartículas Híbridas de Polímero Natural (PHBV)/Polímero Sintético**. 133 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

Normas Técnicas:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e Documentação. Referências: Elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

Trabalhos Apresentados em Congressos:

CLAROS, R. A. R.; PENZ JÚNIOR, A. M. Control de Calidad de los Diferentes Sistemas de Processado de la Soya. In: **III Seminário Internacional em Ciência Avícolas**. Santa Cruz, Bolívia: Anais, p. 25-32, 1997.

Patentes e Marcas:

EMBRAPA. Unidade de Apoio, Pesquisa e Desenvolvimento de Instrumentação Agropecuária (São Carlos). Paulo Estevão Cruvinel. **Medidor digital multisensor de temperatura para solos**. BR n. PI 8903105-9, 1995.

Home Pages e Documentos Disponíveis Somente em Meio Eletrônico:

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Manual para implantação de incubadores de empresas: por que implantar**. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/br/parasuaempresa/incubadorasdeempresas_953.asp>. Acesso em: 12 mai. 2004.