

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

USO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS EM
HAMBÚRGUERES PREPARADOS COM CARNE
MECANICAMENTE SEPARADA DE TILÁPIA

Ana Stela Rossato

ARARAQUARA-SP
2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS**

**USO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS EM
HAMBÚRGUERES PREPARADOS COM CARNE
MECANICAMENTE SEPARADA DE TILÁPIA**

Ana Stela Rossato

Orientadora: Profa. Dra. Maria Regina Barbieri de Carvalho

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas de Araraquara, UNESP, para obtenção do
título de Mestre em Ciência dos Alimentos**

**ARARAQUARA-SP
2010**

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

Rossato, Ana Stela
R827u Uso de antioxidantes naturais em hambúrgueres preparados com carne
mecanicamente separada de tilápia / Ana Stela Rossato. – Araraquara, 2010
89 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de
Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós
Graduação em Alimentos e Nutrição

Orientador: Maria Regina Barbieri de Carvalho

1. Carne mecanicamente separada de pescado. 2. Orégano. 3. Alecrim. 4.
Oxidação. I. Carvalho, Maria Regina Barbieri de, orient. II. Título.

CAPES: 50700006

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Maria Regina Barbieri de Carvalho

Prof^a. Dra. Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi

Prof. Dr. Felipe Shindy Aiura

Agradecimentos

À Deus e aos meus pais, pela vida e por todas as oportunidades oferecidas,

À minha orientadora, Profa. Dra. Maria Regina Barbieri de Carvalho, pela dedicação, compreensão, ensinamentos e pela infindável ajuda em todos os momentos deste trabalho,

À Profa. Dra. Rose Meire Vidotti, cuja experiência foi valiosa para a execução deste projeto,

À Profa. Dra. Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi, por todo o apoio nas análises microbiológicas, pela participação na banca examinadora e pelas sugestões e contribuição fornecida à este trabalho,

Ao Prof. Dr. Felipe Shindy Aiura, pela disponibilidade em participar da banca examinadora e pelas valiosas sugestões,

Ao Prof. Dr. José Carlos Barbosa, pela ajuda imensa com as análises estatísticas,

Ao grupo frigorífico Brazilian Fish e todos os seus funcionários, muito solícitos, que foram imprescindíveis para a elaboração dos hambúrgueres,

À assistente acadêmica Tânia e a técnica e amiga Adriana, por toda a ajuda laboratorial,

Às mestrandas Ana Paula e Flávia, pela ajudas com os preparativos para as análises microbiológicas, e à doutoranda Gisele, pelo companheirismo e troca de experiência durante as análises,

À amiga Fabiana, pela hospedagem em Araraquara, conselhos e sábias opiniões

À toda minha família e aos amigos verdadeiros, por fazerem parte da minha vida,

e a todos que, de alguma forma, colaboraram com este trabalho,

Minha eterna gratidão !

RESUMO

As degradações químicas e microbiológicas constituem os principais fatores de deterioração dos alimentos, sendo a oxidação um dos mais importantes processos de degradação por gerar sabores e odores desagradáveis. Como forma de prevenir ou retardar a oxidação, são adicionados ao alimento substâncias antioxidantes, e os condimentos têm demonstrado poder antioxidante, oferecendo uma alternativa ao uso de antioxidantes sintéticos. O objetivo deste trabalho foi elaborar hambúrgueres com carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia-do-Nilo com adição de orégano e alecrim, e a avaliação da eficiência destas especiarias como antioxidantes. Foram elaboradas formulações contendo 0,10; 0,15 e 0,20% de orégano ou alecrim e um produto sem antioxidante. A composição centesimal, avaliação microbiológica e análise sensorial foram realizadas no início e final do armazenamento e, periodicamente foram determinados TBARS, BNVT, pH, cor instrumental e contagem de microrganismos psicotróficos. Os resultados mostraram que o uso de orégano preveniu mais eficientemente a oxidação dos lipídeos durante 120 dias de armazenamento a -18 °C, avaliado pelos menores valores de TBARS. Entre as porcentagens de orégano utilizadas a 0,20% impediu a oxidação desde o início (0,23 mg MDA.kg⁻¹), e manteve por mais tempo a estabilidade da cor (a*) dos hambúrgueres. Houve interferência nos valores de pH, com menores medidas iniciais com o uso do orégano (6,15 a 6,08), e BNVT não foram alteradas com os condimentos. Não foi detectada presença de *Salmonella* e os resultados para estafilococos coagulase positiva ficaram dentro dos padrões legais. O orégano 0,20% e alecrim 0,20% nas formulações dos hambúrgueres apresentaram a menor contagem de psicotróficos aos 120 dias. Pelas análises sensoriais as formulações com orégano foram as que mais agradaram os provadores. Os resultados mostraram a possibilidade de se elaborar hambúrguer com CMS de tilápia como uma alternativa para o consumo de alimentos a base de pescado, e o uso do orégano como antioxidante é promissor para impedir a oxidação e o desenvolvimento microbiano, além de ter assegurada a sua aceitação pelos provadores.

Palavras-chaves: oxidação, orégano, alecrim, armazenamento, pescado.

ABSTRACT

Chemistry and microbiological degradations are the main causes of food deterioration, and oxidation is one of the most important process of degradation because it can generate unpleasant flavor. As a way to prevent or retard oxidation, antioxidant substances are added in the food. The condiments have demonstrated antioxidant activity and offer an alternative in order to replace synthetic antioxidants.

The aim of this study is to evaluate the efficiency of oregano and rosemary as natural antioxidants used in tilapia fishburger made with CMS (minced fish) and stored frozen for 120 days. It was elaborated formulations of fishburgers containing 0.10%, 0.15% and 0.20% of oregano or rosemary and one without antioxidant. Protein, fat, moisture and ashes determination, microbiological analysis and sensory evaluations were conducted in the beginning and the end of storage period. TBARS, BNVT, pH, instrumental color and psychrotrophic microorganism count were determined periodically. Oregano was found to be more effective in preventing lipid oxidation during 120 days under freezing (-18 °C), evaluated by TBARS values, and oxidative stability was observed for the formulation with 0.20% of oregano. The antioxidants interfered in pH values, oregano formulations showed the lowest values, and did not cause changes in BNVT. The lower values of TBARS in formulations containing oregano showed that this substance did prevent oxidation more efficiently than rosemary during 120 days of storage under -18 °C. In relation to the formulations with oregano, the one with 0.20% of oregano had the most oxidation inhibition since the beginning of storage time (0.23 mg MDA.kg⁻¹), and maintained the color (a*) stability for longer duration. There was interference in the pH, the hamburgers made with oregano had the lowest initial values (6.15 a 6.08) and BNVT was unaltered with the condiments. Microbiological analyses were in accordance with Brazilian legislation. The hamburgers with 0.20% of oregano and 0.20% rosemary revealed the lowest psychrotrophic count at 120 days. Sensory evaluation indicated that the panelists preferred the formulations made with oregano. The results showed that it is feasible to elaborate tilapia fishburger with “minced fish” as an alternative for the fishery’s consumption, and oregano is promising alternative to avoiding oxidation.

Key words: oxidation, oregano, rosemary, storage, fish.

SUMÁRIO

	página
RESUMO	5
ABSTRACT	6
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	10
Capítulo 1	12
1 Introdução	12
2 Objetivos	13
2.1 Geral	13
2.2 Específicos	13
3. Revisão de Literatura	14
3.1 Carne Mecanicamente Separada de pescado	14
3.2 Qualidade da carne de pescado	16
3.3 Deterioração do pescado	17
3.4 Oxidação Lipídica	19
3.5 Antioxidantes	21
3.5.1 Alecrim	22
3.5.2 Orégano	26
4 Material e métodos	28
4.1 Matéria-prima	28
4.2 Formulações	29
4.3 Processamento do hambúrguer de CMS de tilápia	29
4.4 Determinações analíticas	32
4.4.1 Composição química	32
4.4.2 Análise de minerais	32
4.4.3 Oxidação Lipídica (TBARS)	33
4.4.4 Bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT)	33

4.4.5 Medidas de pH	34
4.4.6 Cor	34
4.5 Análises microbiológicas	34
4.5.1 Preparo das amostras e diluições	34
4.5.2 Contagem de microrganismos aeróbios psicrotróficos	35
4.5.3 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes a 45 °C (termotolerantes).....	35
4.5.4 Estafilococos coagulase positiva	36
4.5.5 Pesquisa de Salmonella ssp	36
4.6 Análise Sensorial	37
4.7 Análises estatísticas	39
5. Resultados e Discussão	40
5.1 Composição química da CMS de tilápia	40
5.2 Características químicas e físicas dos hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais	41
5.3 Cor instrumental	52
5.4 Análises microbiológicas	56
5.5 Análise Sensorial	59
6 Conclusões	63
7 Referências Bibliográficas	64
Capítulo 2	75
Resumo	75
Abstract	76
1 Introdução	77
2 Material e Métodos	79
3 Resultados e Discussão	81
4 Conclusões	85
5 Referências	86

LISTA DE FIGURAS

	página
Capítulo 1	
Figura 1. Desossadora para separação mecânica da carne	15
Figura 2. Resíduo da filetagem da tilápia-do-Nilo	15
Figura 3. Carne manualmente separada ou corte em “V” (A).....	15
Figura 4. Carne mecanicamente separada de tilápia-do-Nilo	28
Figura 5. Hambúrgueres de CMS de tilápia após congelamento a -25 °C (A) e codificados e embalados individualmente (B).....	30
Figura 6. Fluxograma para o preparo de hambúrgueres de CMS de tilápia.....	31
Figura 7. Ficha de avaliação sensorial.....	38
Figura 8. Valores médios de TBARS (mg MDA.kg ⁻¹) de hambúrgueres de CMS de tilápia-do-Nilo elaborados com antioxidantes e armazenados por 120 dias a - 18 °C	46
Figura 9. Medidas de pH de hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais e armazenados por 120 dias a -18 °C.....	52
Figura 10. Valores de a* em hambúrgueres de CMS de tilápia com adição de antioxidantes naturais e armazenados a -18 °C por 120 dias.....	55

LISTA DE TABELAS

	página
Capítulo 1	
Tabela 1. Quantidades dos ingredientes (%) utilizados para a formulação dos hambúrgueres de CMS de tilápia.....	29
Tabela 2. Valores da composição química da CMS + CMNS (corte em “V”) de tilápia-do-Nilo.....	40
Tabela 3. Análise de variância (teste F) e teores de umidade, proteína, lipídeos e cinzas dos hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais em concentrações variadas, com 5 e 120 dias de armazenamento.....	42
Tabela 4. Desdobramento da interação entre antioxidantes e período de armazenamento para os valores de proteína dos hambúrgueres elaborados com CMS de tilápia.....	43
Tabela 5. Análise de variância e valores médios para TBARS (mg MDA.kg ⁻¹) BNVT (mg N.100g ⁻¹) e pH de hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais em concentrações variadas, durante o armazenamento por 120 dias.....	45
Tabela 6. Equações de regressão para os valores de TBARS (mg MDA.kg ⁻¹) de hambúrgueres de CMS de tilápia-do-Nilo elaborados com antioxidantes naturais e armazenados por 120 dias a -18 °C.	45
Tabela 7. Equações de regressão para as medidas de pH de hambúrgueres de CMS de tilápia-do-Nilo elaborados com antioxidantes naturais e armazenados durante 120 dias a 18 °C.....	51
Tabela 8. Análise de variância (teste F) e valores médios cor instrumental de hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais em concentrações variadas, durante o armazenamento por 120 dias.....	53
Tabela 9. Equações de regressão para os valores de a* dos hambúrgueres de CMS de tilápia armazenados a -18 °C por 120 dias.....	55
Tabela 10. Contagem de bactérias aeróbias psicotróficas (log ₁₀ UFC.g de amostra ⁻¹) de hambúrgueres de CMS de tilápia-do-Nilo elaborados com antioxidantes e armazenadas por período de 120 dias a -18°C.....	57
Tabela 11. Avaliação sensorial de hambúrguer elaborado com CMS de tilápia e com antioxidantes naturais, armazenadas a -18 °C por 5 dias.....	60
Tabela 12. Avaliação sensorial de hambúrguer elaborado com CMS de tilápia e com antioxidantes naturais, armazenadas por 120 dias a -18 °C.....	61

Capítulo 2

Tabela 1. Análise de variância (teste F) para TBARS (mg MDA.kg-1), BNVT (mg.100g-1) e pH de hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais em concentrações variadas, durante o armazenamento por 120 dias.....	81
---	-----------

Tabela 2. Desdobramento da interação entre antioxidantes e período de armazenamento para os valores de TBARS dos hambúrgueres elaborados com CMS de tilápia.....	83
--	-----------

Tabela 3. Desdobramento da interação entre antioxidantes e período de armazenamento para as medidas de pH dos hambúrgueres elaborados com CMS de tilápia.....	84
---	-----------

Apêndice

Tabela 1. Contagem de bactérias aeróbias psicotróficas (UFC/g de amostra) de hambúrgueres de CMS de tilápia do Nilo elaborados com antioxidantes e armazenadas por período de 120 dias a -18°C.....	89
---	-----------

Capítulo 1

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura mundial tem crescido em ritmo superior a 10% ao ano (OETTERER, 2002), com elevação da piscicultura brasileira de 60,2% em 2008/2009, e, no Brasil, a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies mais produzidas pela aquicultura, atingindo 132 mil toneladas em 2009, representando 39% do total de pescado cultivado (BRASIL, 2010).

A extração da Carne Mecanicamente Separada (CMS) destaca-se como um processo atraente pela possibilidade de recuperação da carne remanescente dos métodos tradicionais de filetagem, diminuindo o custo de produção e a quantidade de resíduo gerado (KIRSCHNIK, 2007).

Diversos produtos podem ser desenvolvidos e comercializados a partir da CMS de pescado, como “fishburguer” (BUENO et al, 2007), salsichas (OLIVEIRA FILHO, 2009), “nuggets” (KIRSCHNIK, 2007) e croquetes (BORDIGNON et al, 2010); possibilitando, dessa forma, a ampliação da oferta de produtos da indústria pesqueira (MORAES e MARTINS, 1981).

A inclusão de substâncias antioxidantes pode evitar o processo de oxidação lipídica e, dessa forma, aumentar a vida de prateleira do alimento (EYMARD et al., 2005). Várias especiarias têm demonstrado atividade antioxidante, sendo o orégano, o alecrim e a sálvia algumas das especiarias mais estudadas por diversos autores (BHALE et al, 2007, WONG et al, 1995) como antioxidantes naturais.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o uso de antioxidantes naturais em hambúrguer de carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia-do-Nilo.

2.2 Específicos

Avaliar as características físicas, químicas e microbiológicas do produto congelado.

Avaliar o retardo do processo oxidativo dos hambúrgueres elaborados com orégano e alecrim, durante o armazenamento congelado por 120 dias.

Avaliar sensorialmente os hambúrgueres no início e final do armazenamento, a fim de verificar a aceitação pelos provadores e a possibilidade de indicação da formulação mais apropriada para elaboração deste produto.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Carne mecanicamente separada (CMS) de pescado

O surgimento da carne mecanicamente separada de pescado ocorreu no Japão, no final da década de 40, como forma de aproveitar partes da carne de certas espécies de peixes que eram subutilizadas ou desperdiçadas (FRONING, 1981). No Brasil, no começo da década de 90, teve início o processamento industrial de tilápia, este procedimento visava apenas a obtenção de filés, cujo rendimento é de 30 a 33% (OETTERER, 2002). Além dos danos de ordem ambiental, o baixo rendimento da filetagem da tilápia causa prejuízos econômicos, visto que os resíduos também são considerados para calcular o preço final do filé de tilápia. Embora a utilização desses resíduos para ração animal seja uma alternativa, se constitui somente em uma medida paliativa, pois a carcaça contém músculos de boa qualidade que são desperdiçados (KIRSCHNIK, 2007). Para Santa Rosa (2009), o aproveitamento dos resíduos de tilápia é uma atividade que viabiliza uma receita adicional para as unidades processadoras, além de diminuir os resíduos ambientais.

De acordo com a FAO/WHO (1994) a carne mecanicamente separada (CMS) de pescado é o produto isento de ossos, vísceras, escamas e pele, obtida pela separação mecânica (Figura 1) de uma única espécie de pescado ou da mistura de peixes de várias espécies, desde que com características sensoriais similares. A CMS de pescado pode ser obtida a partir de peixes eviscerados e descabeçados e de resíduos de filetagem (Figura 2). As aparas dorsais, ventrais e do corte em “V”, também denominado carne manualmente separada (CMNS) (Figura 3), resultantes do processamento do filé de tilápia representam, em média, 5% do peso dos peixes abatidos. Desse total de aparas, cerca de 15% são provenientes do corte em “V”, para a retirada de espinhos remanescentes no filé e 85% são provenientes do corte dorsal e ventral para sua padronização (MARTINS et al., 2009). Assim, a extração de CMS a partir de resíduos da filetagem da tilápia aumenta o rendimento em carne de 9,5 a 20% (OETTERER, 1999).



Figura 1. Desossadora para separação mecânica da carne.



Figura 2. Resíduo da filetagem da tilápia-do-Nilo.

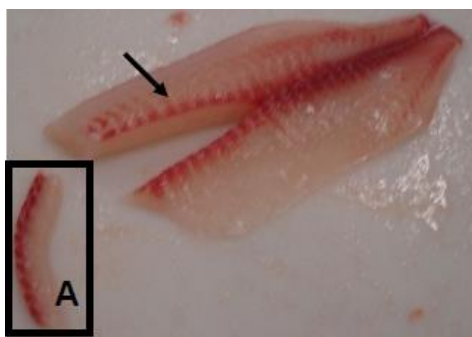


Figura 3. Carne manualmente separada ou corte em “V” (A). (Santa Rosa, 2009)

De acordo com Kuhn e Soares (2002) o aproveitamento da CMS de pescado, incluindo os pescados de água doce, é uma alternativa para diversificar os produtos ofertados e expandir o aproveitamento dos recursos da aquicultura. Tokur et al. (2006) demonstraram que “fish fingers” produzido com CMS de carpa espelho mantiveram bons índices indicativos de qualidade química e sensorial, durante um período de 8 meses de armazenamento congelado. Santa Rosa (2009) propôs para uma empresa de médio porte, a produção de hambúrguer com CMS, além da silagem ácida e couro, como tecnologias viáveis e econômicas para o aproveitamento dos resíduos gerados pelo processamento da tilápia. Oliveira Filho et al. (2010) elaboraram salsichas com 60% de CMS de resíduos provenientes da filetagem da tilápia, com boas qualidades física e química e sensorial, com possibilidade de estocagem a 0 °C por 40 dias.

Hambúrgueres de pescado jundiá elaborados com 50% de resíduos de filetagem apresentaram alto valor nutricional e aceitação sensorial semelhante à formulação elaborada exclusivamente com filés do pescado, verificando, assim, a viabilidade do produto obtido com CMS e estocado a -20 °C (BOCHI et al., 2008).

3.2 Qualidade da carne de pescado

A carne de pescado engloba diversas vantagens nutricionais, como a presença de todos os aminoácidos essenciais, com alto teor de lisina, a alta digestibilidade protéica, bom suprimento de vitaminas do complexo B e lipossolúveis e a alta insaturação dos ácidos graxos (OETTERER, 2002). Apresenta teor protéico altamente nutritivo, balanceado e semelhante entre as diversas espécies de pescado (OGAWA e MAIA, 1999).

Embora a tilápia-do-Nilo seja considerada um peixe com baixo teor de gordura, apresenta teores de ácido graxo saturados (AGS) variando de 33,85 a 37,05%, e de insaturados de 26,02 a 29,99% (AIURA e CARVALHO, 2004), sendo os teores de AGS mais elevados do que de outras espécies de peixe de água doce (CASTRO et al., 2007). A maioria dos ácidos graxos poliinsaturados segue o mesmo comportamento

cinético para a oxidação, que é dependente do número de insaturações da molécula, sendo mais propenso à autooxidação os ácidos graxos com maior número de insaturações (COSGROVE et al, 1997).

3.3 Deterioração do pescado

A facilidade com que os lipídios constituintes do pescado sofrem oxidação torna o pescado um dos alimentos mais propensos ao processo deteriorativo, quando comparado com outros produtos cárneos (LEITÃO, 1977).

O rigor-mortis caracteriza-se pela contração muscular que ocorre após a morte do animal, quando atinge o máximo, o índice de rigor começa a declinar e então ocorre a flacidez do músculo do pescado. O intervalo de tempo compreendido entre a morte do pescado até atingir o rigor máximo varia de acordo com a espécie, fatores fisiológicos, grau de exaustão do pescado, tamanho dos peixes, temperatura de estocagem, entre outros fatores. (OGAWA e MAIA, 1999)

Com a proteólise ao final do “rigor mortis” é possível ocorrer o desprendimento de metabólitos voláteis como as bases nitrogenadas, que compreendem compostos como amônia, trimetilamina e dimetilamina (OETTERER, 2002), ocorrendo ainda, a elevação do pH e a rápida ação dos microrganismos endógenos e exógenos (OLIVEIRA, 2004). Segundo Ogawa e Maia (1999) nos peixes em excelente estado de frescor, o teor de bases nitrogenadas voláteis atinge 5 a 10 mg N. 100g⁻¹, e em peixes com frescor razoável podem atingir de 15 a 25 mg N.100g⁻¹ de músculo. A legislação brasileira estabelece valor limite de 30 mg N.100g⁻¹ para bases nitrogenadas voláteis totais (BRASIL, 1997b).

A deterioração natural limita o tempo de vida útil do pescado pós captura. Entretanto, esta deterioração tem induzido pesquisas no desenvolvimento de métodos para retardar o crescimento microbiano e, assim, reduzir o processo de deterioração

por contaminação microbiológica (SOCCOL, 2003). Os métodos combinados, bastante explorados na produção e conservação de alimentos, que podem apresentar efeitos aditivos ou sinérgicos, são utilizados para preservação, pois a soma de fatores usados na conservação do produto garante que o alimento permaneça estável e seguro (LEISTNER, 1992).

Entender o processo de deterioração do alimento e os microrganismos envolvidos é fundamental para estabelecer metas para assegurar a qualidade de cada produto específico (GRAM e HUSS, 1996).

A espécie do pescado e a temperatura em que o produto será armazenado exercem uma importante influência sobre as características do processo de deterioração microbiana. Para peixes refrigerados a temperaturas inferiores a 4 °C, os microrganismos aeróbios mais comuns são *Pseudomas*, no entanto, existem outros microrganismos específicos para deterioração, dependendo do habitat do peixe, água doce ou salgada, e da temperatura da água (GRAM e HUSS, 1996).

Os microrganismos psicotróficos são os principais responsáveis pela decomposição microbiana do pescado; caracterizado por alterações organolépticas, com destaque ao aroma pronunciado, embora bactérias patogênicas também podem ser encontradas, principalmente em situações de baixa qualidade da água em que o pescado estava inserido ou falha em alguma etapa do processamento. Entre o grupo de bactérias deteriorantes, as *Pseudomonas* e a *Shewanella*, que também utilizam substâncias nitrogenadas não-proteicas como substrato, são as principais responsáveis pelas alterações sensoriais no pescado (FRANCO e LANDGRAF, 1996). Para Destro (2000), deveria ter maior investigação em relação à *Listeria* ssp em pescados e seus derivados produzidos e comercializados no Brasil.

Sardinhas estocadas a 0 e a 4 °C foram avaliadas durante 10 dias, e foi revelado que o crescimento de microrganismos psicotróficos não foi contido na temperatura de 4 °C. Análises sensoriais determinaram que a vida de prateleira da sardinha armazenada na temperatura de 0 °C foi de 6 dias, sendo 2 dias a mais do que o outro produto (GOKOGLU e YERLIKAYA, 2004).

A composição química do pescado; fonte de proteínas e com a presença de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis, a elevada atividade de água e o pH próximo

da neutralidade torna o pescado um dos alimentos mais propensos a deterioração (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Contudo, Todd (2004) ressalta que a responsabilidade para o consumo de alimentos seguros não é apenas da indústria, mas também dos consumidores que devem adotar práticas para evitar a contaminação dos alimentos.

No Brasil, os padrões microbiológicos para pescado estabelecidos pelo Ministério da Saúde são: *Salmonella*: ausência em 25g; coliformes fecais: máximo de 10^2 .g⁻¹; Estafilococos coagulase positiva: máximo de 10^3 .g⁻¹; contagem padrão em placas: máximo de 10^6 .g⁻¹ (BRASIL, 2001).

3.4 Oxidação lipídica

A oxidação é um dos maiores problemas para a produção de alimentos que são fontes de lipídios. Além da formação de sabor e odor desagradável, também diminui o valor nutricional do alimento através dos produtos gerados por reações secundárias durante o processamento (FRANKEL, 1980).

A rancidez oxidativa não afeta somente a qualidade do alimento através da formação de compostos de sabor desagradável e destruição dos nutrientes, mas também a segurança do produto ofertado ao consumidor, uma vez que existe a formação de substâncias tóxicas (ALLEN e HAMILTON, 1994). Embora ainda necessite mais estudos para que o processo oxidativo e seus possíveis malefícios sejam compreendidos, a oxidação lipídica pode desencadear a formação de compostos tóxicos, que não serão absorvidos nem metabolizados e que podem estar relacionados com algumas patologias (KUBOW, 1993).

A vida útil dos alimentos pode ser estendida através da utilização de embalagens a vácuo (SOCCOL e OETTERER, 2003) ou da inclusão de antioxidantes ao produto (ALLEN e HAMILTON, 1994, TANG et al, 2001, YERLIKAYA e GOKOGLU,

2010). Para Pantazi et al. (2008), o emprego de embalagens de atmosfera modificada permite elevar a vida de prateleira de peixes refrigerados .

Soccol e Oetterer (2003) ressaltaram que, embora o uso de embalagens com atmosfera modificada seja capaz de aumentar a vida de prateleira dos alimentos à base de pescado, seu uso não tem êxito se, dentre outros fatores, as matérias-primas não apresentarem boa qualidade e se não houver higiene adequada durante todo o processamento do alimento.

As condições de armazenamento exercem importantes funções na conservação do alimento. Herrera et al. (1999) utilizaram crioprotetores em carne moída do pescado *Micromesistius potassou* e verificaram que a capacidade de retardar a produção de formaldeído, substância envolvida na oxidação lipídica, foi mais eficiente a -20 °C que a -10 °C.

Boyd et al. (1993) demonstraram que a temperatura de armazenamento exerce influência no controle da oxidação, pois os valores de TBARS para as amostras de “flakes” cozidos de peixe e estocadas a -70 °C foi menor do que os resultados encontrados para as amostras que foram armazenadas a -20 °C, por um período de 90 dias.

Cakli et al. (2005) desenvolveram “fish fingers” com diferentes espécies de pescados. Os “fish fingers”, estocados a -18 °C durante 8 meses, foram bem avaliados química e microbiologicamente e a avaliação sensorial final indicou rancidez no produto elaborado com sardinha.

A inclusão de substâncias antioxidantes, naturais ou sintéticas, pode evitar o processo de oxidação lipídica e, dessa forma, aumentar a vida de prateleira do alimento (EYMARD et al., 2005). Tang et al. (2001) verificaram variações no poder antioxidante de compostos naturais, sendo as catequinas mais efetivas na prevenção de oxidação em relação ao alfa tocoferol. Concluíram ainda, que o processo oxidativo também tem sua intensidade influenciada pela espécie animal.

3.5 Antioxidantes

Substâncias antioxidantes são aquelas que, em pequenas concentrações em comparação ao extrato oxidável, retardam ou evitam as etapas de início ou da propagação das reações que ocorrem no processo oxidativo (HALLIWELL et al., 1995).

Alguns dos antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria de alimentos são: butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT), tércio-butil-hidroxiquinona (TBHQ), e propil galato (PG) (ALLEN e HAMILTON, 1994). A eficiência de um antioxidante é determinada por uma variedade de fatores, como, por exemplo, energia de ativação do antioxidante, potencial de redução e oxidação, estabilidade do radical intermediário, estabilidade térmica e hidrofobicidade (CHEN et al, 1996). Maqsood e Benjakul (2005) citaram a capacidade de quelar íon de ferro não-heme como parte da função antioxidante.

O antioxidante ideal deve corresponder a várias especificações: segurança, não alterar a cor, o sabor e o odor dos alimentos, eficiência em baixas concentrações, facilmente incorporável ao alimento, resistência aos processos térmicos e ser adquirido com baixo custo (ALLEN e HAMILTON, 1994).

A maioria dos antioxidantes sintéticos pode apresentar problemas de solubilização, alteração das características sensoriais do alimento e toxicidade e como consequência o uso desses compostos são limitados pela legislação (GUERRA e LAJOLO, 2005).

Algumas pesquisas têm apontado para os efeitos negativos do antioxidante sintético BHA em estudos "in vivo". Schilderman et al. (1995) estudou o efeito da administração de BHA em ratos, verificando o aparecimento de inflamação e hiperplasia estomacal.

Pokorný (1991) cita, entre as diversas vantagens dos antioxidantes naturais, a rápida aceitação perante o consumidor e a maior facilidade para ser aprovado pela legislação.

Para Yerlikaya e Gokoglu (2010), extratos de plantas podem substituir os antioxidantes sintéticos em indústrias alimentícias.

Compostos fenólicos são substâncias bioativas presentes em alimentos de origem vegetal, sendo que muitos destes compostos são fontes de antioxidantes naturais (SCHIRCH e MANCINI FILHO, 2000) e sua ação antioxidante foi demonstrada em vários trabalhos (BANIAS et al, 1992, TANG et al, 2001, YERLIKAYA e GOKOGLU, 2010). Polifenóis foram eficientemente usados como antioxidantes na elaboração de filmes comestíveis de gelatina de atum (GÓMEZ-GUILLÉN et al. 2007).

Corbo et al. (2008) afirmaram que compostos naturais podem prolongar a vida de prateleira de produtos embalados, de forma barata e simples quando comparados com outros métodos de preservação como irradiação, culturas protetoras ou tratamentos de alta pressão. Torres et al. (2000) também verificaram o poder de compostos naturais no combate ao processo oxidativo.

Maqsood e Benjakul (2005) demonstraram experimentalmente que o ácido tânico, o ácido cafeíco e as catequinas conseguiram inibir a oxidação lipídica em emulsões de óleo e em carne moída de pescado, e dentre esses compostos, o ácido tânico foi aquele que apresentou melhor desempenho.

O orégano, o alecrim e a sálvia são algumas das especiarias mais estudadas por diversos autores (BHALE et al, 2007, WONG et al, 1995) como substâncias antioxidantes. No entanto, somente o alecrim é usado industrialmente (MADSEN e BERTELSEN, 1995).

3.5.1 Alecrim

O alecrim, nome popular para *Rosmarinus officinalis* L. pertence à família *Lamiaceae*, é um arbusto pequeno, nativo do Mediterrâneo, com folhas estreitas e aromáticas que são utilizadas para produção do óleo essencial na indústria cosmética e na medicina, além de ser utilizado como condimento para diferentes produtos e preparações alimentícias (ROSENGARTEN JR, 1969).

Frankel et al. (1996) demonstraram a atividade antioxidante do extrato de alecrim e de seus principais constituintes, o ácido carnósico, o carnosol e os ácidos rosmarínicos.

Yi e Wetzstein (2010) verificaram a presença de atividade antiinflamatória no alecrim.

Ozogul et al. (2010) avaliaram sardinhas imersas em duas concentrações de extrato de alecrim e embaladas a vácuo, em comparação com um grupo controle, por um período de 20 dias a 4 °C. Durante este período, foi possível constatar que o “off-flavour” foi relativamente maior no grupo controle do que nas sardinhas tratadas com alecrim, e dessa forma, verificaram que essa especiaria contribuiu para a melhor qualidade sensorial do produto. O alecrim, associado à embalagem a vácuo, permitiu aumentar a vida de prateleira do produto refrigerado por mais de quatro dias.

Atualmente, vários trabalhos têm comprovado a viabilidade da inclusão do alecrim, como antioxidante, em diversos alimentos, como frangos (NISSEN et al, 2000), ovinos (SOUZA et al, 2005), caprinos (NASSU et al, 2003) e peixes (SANT’ANA e MANCINI-FILHO, 1999).

Guynot et al. (2005) comprovaram o efeito antifúngico do óleo de alecrim e Campo et al. (2000) relataram ação antimicrobiana dos diterpenos, presentes no extrato de alecrim e a influência do meio de cultura sobre essa atividade.

O alecrim conseguiu inibir o crescimento da bactéria *P. phosphoreum*; responsável pela deterioração em pescados, em experimentações “in vitro”. Neste estudo, as concentrações utilizadas variaram de 500 a 1000 ppm, e o extrato de alecrim foi mais eficiente nas maiores concentrações (CORBO et al., 2008). E o óleo comercial essencial de alecrim, quando não diluído, foi capaz de inibir a bactéria *Salmonella* (HENTZ e SANTIN, 2007).

A inclusão dos extratos de alecrim, de sálvia e vitamina E foi eficaz no combate à oxidação em bifes de carne bovina, avaliada através de cromatografia e valores de TBA, durante 5 dias consecutivos e, embora o melhor resultado foi verificado para o produto com vitamina E, o alecrim e a sálvia, respectivamente, obtiveram melhor desempenho que o produto cárneo sem antioxidante (WONG et al. 1995).

Schirch e Mancini Filho (2000) compararam a atividade antioxidante dos compostos fenólicos da fração solúvel do extrato de alecrim e do antioxidante sintético BHT, e foi verificado maior efeito antioxidante para o extrato de alecrim, 92,2%, em comparação com o BHT, 60,2%.

A inclusão de substâncias naturais e sintéticas na carne de frango desidratada foi estudada por NISSEN et al. (2000), que obtiveram melhores resultados para o produto adicionado de extrato de alecrim e para os dois produtos em que foram incluídos os antioxidantes sintéticos BHA e o octil galato; outras substâncias naturais, como o extrato de chá e de café, também foram avaliados mas não demonstraram a mesma eficiência do alecrim. Bragagnolo et al. (2005) também demonstraram que o alecrim adicionado em carne de frango moída e estocada a 5 °C por 9 dias, com e sem posterior aquecimento, foi eficiente em retardar as reações de oxidação e manter os níveis de tocoferol do músculo.

Souza et al. (2005) estudaram o comportamento antioxidante do alecrim quando adicionado juntamente com dois teores diferentes de toucinho suíno usado na produção de embutido fresco formulado a partir de carne ovina e foi constatado, através dos resultados obtidos pela análise sensorial, teor de maciez e avaliação da oxidação lipídica no período inicial e após 4 e 7 dias depois do embutimento, que dentre as seis formulações avaliadas, a melhor combinação foi obtida para o tratamento com a menor porcentagem de toucinho suíno (15%) e a maior adição de alecrim (0,1%) .

Nassu et al. (2003) também verificaram a atuação do alecrim como antioxidante natural em produto fermentado e embutido de carne de caprino com concentrações variadas de gordura, obtendo melhor controle do processo oxidativo para a maior concentração (0,05%) de alecrim utilizada. O extrato de alecrim foi capaz de retardar o processo de deterioração oxidativo em filés de pescado conservados em temperatura de congelamento (VARELTZIS et al, 1997).

Sant'ana e Mancini-Filho (1999) estudaram o efeito da adição de extrato de alecrim na alimentação de pacus que, depois de abatidos, foram irradiados e armazenados congelados a – 35 °C por 30 dias. Os resultados obtidos pela análise de

TBARS constataram que os peixes que receberam extrato de alecrim, irradiados ou não, apresentaram menor tendência ao processo oxidativo.

Boyd et al. (1993) avaliaram o efeito de diferentes substâncias no combate à oxidação em “flakes” de peixe cozidos e armazenados durante o período de 90 dias. O melhor resultado (0,45 mg MDA.kg⁻¹) foi obtido para o composto TBHQ-ácido ascórbico, e a adição do alecrim apresentou melhor efeito antioxidante quando combinado (0,49 mg MDA.kg⁻¹) com o TBHQ-ácido ascórbico do que quando adicionado isoladamente (0,74 mg MDA. kg⁻¹), e o produto sem antioxidante foi o que apresentou o pior resultado.

Afonso et al. (2008) avaliaram filés de tilápia-do-Nilo salgados secos e congelados a -18 °C, com inclusão de extrato de alecrim, que foram divididos em grupo controle, grupo com extrato de alecrim no processo de salga e o grupo tratado com alecrim antes da salga. Os resultados mostraram que os valores de TBARS aumentaram mais lentamente nos grupos com alecrim, assim como também não apresentaram aumento significativo em relação ao tempo de 240 dias.

Vareltzis et al. (1997) estudaram filés e carne moída de filés de pescada do mediterrâneo (*Merluccius mediterraneus*) e carapau (*Trachurus trachurus*) com inclusão de extrato de alecrim, e verificaram, pelos valores de TBARS, que em todas as amostras em que houve adição de extrato, ocorreu também redução do processo oxidativo.

Ao mergulhar sardinhas em soluções de alecrim, e avaliar a oxidação durante 20 dias em temperatura de refrigeração, foi constatado por Ozogul et al. (2010) que ao final do experimento, os valores de TBARS foram, 0,90; 0,80 e 0,65 mg MDA.kg⁻¹ para os produtos controle e com 1% e 2% de alecrim e embaladas a vácuo, respectivamente.

3.5.2 Orégano

O orégano, planta do gênero *Origanum*, originou-se no Mediterrâneo e atualmente é bastante utilizado como aromatizante em diversos tipos de alimentos, como os produtos de origem italiana e mexicana (TAINTER e GRENIS, 1996). No entanto, sua importância não se restringe apenas como condimento, mas engloba também suas propriedades antifúngicas (DAOUK et al., 1995), antibacterianas (SAHIN et al., 2004) e antioxidantes (MEXIS et al., 2009). Bhale et al. (2007) encontraram quantidades de compostos fenólicos, responsáveis pela função antioxidativa, similares no orégano e no alecrim, embora a capacidade antioxidante demonstrou ser diferente entre as duas especiarias.

Os principais constituintes do orégano são o timol e o carvacrol (DAOUK et al., 1995, TAINTER e GRENIS, 1996).

Sahin et al. (2004) demonstraram ação antimicrobiana e antifúngica do óleo essencial de orégano perante diversos e importantes microrganismos: *Bacillus* spp, *Enterobacter* spp, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, *Candida* spp, *Fusarium* spp, *Aspergillus* spp, *Rhizopus* spp e *Penicillium* spp. O óleo de orégano também demonstrou ser eficiente na inibição dos microrganismos *Bacillus subtilis*, *Salmonella choleraesuis*, *Streptococcus faecium*, *Micrococcus luteus* e *Staphylococcus aureus* (REHDER et al., 2004). Sultanbawa et al. (2009) relataram atividade antimicrobiana do orégano frente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Corbo et al. (2008) produziram hambúrgueres de bacalhau com adição de extrato de timol, substância presente no orégano, em embalagem de atmosfera modificada, a 4 °C por 9 dias. Os resultados mostraram que houve grande inibição de microrganismos aeróbios psicrotróficos deteriorantes, seguidos por diminuição da população de bactérias produtoras de sulfeto de hidrogênio, coliformes e *Enterobacteriaceae*, bactérias psicrotróficas e *Pseudomonas* spp. O orégano também foi eficiente em inibir o crescimento de microrganismos psicrotróficos em empanados de

carne a 2 °C por 12 dias em atmosfera modificada (SÁNCHEZ-ESCALANTE et al., 2003).

Cintra e Mancini-Filho (2001) demonstraram, “in vitro” e “in vivo”, a ação antioxidante dos extratos alcoólico e aquoso do alecrim e do orégano, no entanto, relataram que essa atividade foi distinta nas diferentes condições experimentais empregadas.

Ntzimani et al. (2010) analisaram carne de frango semi-cozidas com adição de um complexo de EDTA, lisozima e óleo de alecrim ou de orégano em embalagem com e sem vácuo e concluíram que as duas soluções foram eficientes no controle microbiano, com extensão da vida de prateleira em 6 a 7 dias.

Para Jerkovic et al. (2001), o teor dos compostos fenólicos do óleo essencial de orégano sofreu variação em diferentes estações climáticas do ano.

Mexis et al. (2009) demonstraram que o uso de embalagens absorvedoras de oxigênio em simbiose com a adição de 0,4% de óleo essencial de orégano em filés de trutas arco-íris mantiveram a vida de prateleira do produto em 17 dias. A adição do orégano contemplou o produto com 7 a 8 dias de vida útil, enquanto o uso da embalagem especial aumentou a vida para 13-14 dias, e, sem a ausência dessas duas variáveis, os filés de truta arco-íris seriam viáveis ao consumo apenas por 4 dias.

Rotta et al. (2008) conduziram um estudo que demonstrou maior poder antioxidante no extrato de orégano em relação ao radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila), quando comparado com extrato de alecrim, manjerição, sálvia e coentro. Capecka et al. (2005) relataram melhor desempenho orégano, através da análise de folhas frescas e secas, na inibição da peroxidação do ácido linoléico, quando comparado com hortelã e erva cidreira e afirmaram que mesmo após o processo de secagem, o orégano manteve seu teor de flavonoídes. Sánchez-Escalante et al. (2003) verificaram que o uso de antioxidantes reduziu significativamente a intensidade da degradação lipídica em amostras de empanados de carne a 2 °C quando comparado com o produto controle. Das 12 combinações testados, os melhores resultados foram obtidos pela amostra com 500 ppm de orégano e com mistura de 500 ppm de orégano e ácido ascórbico.

4 Material e Métodos

4.1 Matéria-prima

Os resíduos (carcaça) da filetagem de tilápia-do-Nilo, compostos de espinhaça da coluna vertebral, sem cabeça, sem pele e sem vísceras foram fornecidos pelo frigorífico Brazilian Fish, localizado na cidade de Santa Fé do Sul - SP. Após lavagem em água e retirada do excesso de gordura, os resíduos foram passados em desossadora mecânica Brusinox[®] que utiliza o sistema de cinto-cilindro para a separação da carne. As carcaças foram pressionadas por um cinto de borracha contra um cilindro perfurado, obtendo-se a CMS (Figura 4). Foi também utilizado o resíduo remanescente da filetagem para a retirada dos espinhos próximos a linha lateral, denominado de corte em "V" ou carne manualmente separada (CMNS), o qual foi triturado em um moedor homogeneizador CAF[®] utilizando-se disco com furos de 2mm. A CMS (90%) e os cortes em "V" moídos (10%) foram misturados e homogeneizados (equipamento CAF[®]).



Figura 4. Carne mecanicamente separada de tilápia-do-Nilo.

4.2 Formulações

As formulações dos hambúrgueres de tilápia foram compostas por 92% de CMS e foram utilizados alecrim e orégano comercial como antioxidantes naturais. Os condimentos foram moídos e utilizados nas concentrações de 0,0%, 0,10%, 0,15% e 0,20% do peso total do produto, constituindo sete formulações. Os demais ingredientes foram sal, proteína de soja texturizada, fécula de mandioca, alho e cebola desidratados, conforme Tabela 1. Além do antioxidante, o outro ingrediente variável foi o alho desidratado, com máxima concentração (0,5%) para o produto sem antioxidante.

Tabela 1. Quantidades dos ingredientes (%) utilizados para a formulação dos hambúrgueres de CMS de tilápia.

Ingredientes	Quantidade (%)
Carne mecanicamente separada (CMS) e corte em “V” (CMNS)	92
Proteína texturizada de soja	4
Fécula de mandioca	2
Alho desidratado*	0,3 a 0,5
Cebola desidratada	0,5
Sal	1
Antioxidante	0 a 0,20

* porcentagem variável em função da concentração de antioxidante.

4.3 Processamento do hambúrguer de CMS de tilápia

A CMS foi pesada e misturada com os demais ingredientes em moedor homogeneizador CAF® e a massa pronta foi formatada manualmente com o auxílio de um moldador de hambúrguer em porções de aproximadamente 90g, resultando em 95 hambúrgueres para cada uma das sete formulações. As unidades foram congeladas

em câmara de congelamento a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e embaladas individualmente (Figura 5). Todo o procedimento foi realizado na unidade de processamento de filé do frigorífico Brazilian Fish. Os hambúrgueres foram transportados em caixas térmicas para o Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia, FCAV/UNESP - Jaboticabal, e mantidos em freezer a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 meses. Foi considerado como tempo inicial e final de armazenamento 5 e 120 dias, respectivamente. Todas as amostras foram descongeladas a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$, por um período de 24 h, antes de sua utilização. O fluxograma para obtenção dos hambúrgueres de CMS de tilápia está apresentado na Figura 6.



Figura 5. Hambúrgueres de CMS de tilápia após congelamento a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (A) e codificados e embalados individualmente (B).

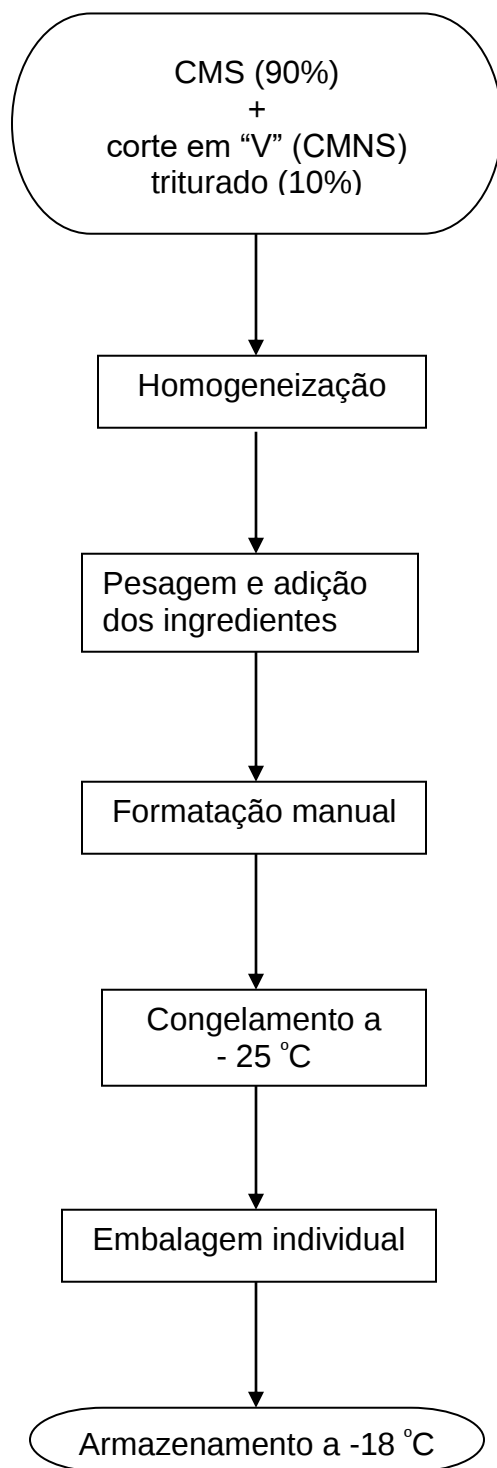


Figura 6. Fluxograma para o preparo de hambúrgueres de CMS de tilápia.

4.4 Determinações analíticas

4.4.1 Composição química

As porcentagens de umidade, proteína, lipídeos e cinzas foram determinadas, em triplicada, em amostras de CMS e hambúrguer, conforme as normas da Association of Official Analytical Chemist (AOAC, 1995).

- Umidade - O teor de umidade foi determinado pela secagem da amostra em estufa a 105° C até peso constante.
- Proteína - O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método semi-micro Kjeldhal, utilizando-se o fator 6,25 para a obtenção do teor de proteína total.
- Lipídeos- A determinação do teor de lipídeos foi realizada pelo técnica de Soxhlet usando éter de petróleo como material extrator.
- Cinzas - Foi determinada pela incineração em mufla a 550 °C.

4.4.2 Análise de minerais

As amostras de CMS foram analisadas quanto ao teor de minerais: Ca, Mg, Na em extratos obtidos mediante a digestão nitroperclórica e leitura em espectrofotômetro de absorção atômica conforme método descrito por Sarruge e Haag (1979).

4.4.3 Oxidação lipídica (TBARS)

O método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi utilizado para determinar a oxidação lipídica, analisada no início e após 60, 90 e 120 dias de estocagem a -18 °C em triplicata de 3 hambúrgueres, e os resultados foram expressos em mg malonaldeído.kg⁻¹. Para cada análise, 5 g de amostra foram pesadas, homogeneizadas e adicionadas de 25 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) (7,5% de TCA, 0,1% de EDTA e 0,1% de propil galato) e posteriormente foram homogeneizadas novamente durante 1 minuto e filtradas. O filtrado foi repassado para tubos de ensaio (4 mL por tudo) e adicionados de 1 mL de solução de TCA 7,5% e 5mL de solução de TBARS 0,02%, a seguir, foram cobertos e fervidos em banho-maria a 100 °C por 40 minutos, resfriados até atingir a temperatura ambiente e as absorbâncias lidas em espectrofotômetro de comprimento de onda de 538 nm (VYNCKE,1970)

4.4.4 Bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT)

As bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) foram determinadas no tempo inicial e aos 60, 90 e 120 dias de armazenamento e os resultados foram expressos em mg N.100g⁻¹. Foram pesadas 25 g de cada amostra e homogeneizadas em um processador de alimentos com 60 ml de solução de ácido tricloroacético (TCA) 10% por 5 minutos, mantidas em repouso na geladeira por 2 horas e a seguir foram filtradas com papel filtro. Foram recolhidos 25 ml do filtrado e adicionado 1g de óxido de magnésio e 2 gotas do indicador fenolftaleína, essa solução foi acoplada em um destilador de nitrogênio e destilada com 15 ml de indicador misto (composto de vermelho de metila e verde bromocresol). A solução recolhida foi titulada com HCl 0,02N (HOWGATE, 1976)

4.4.5 Medidas de pH

Os valores das medidas pH foram obtidos dos hambúrgueres no início e após 60, 90 e 120 dias de armazenamento, utilizando-se potenciômetro digital, com o eletrodo inserido diretamente na amostra.

4.4.6 Cor

A avaliação da cor foi realizada utilizando-se o colorímetro Minolta Chroma Meter CR - 300, para as determinações dos parâmetros L * (luminosidade), a * (vermelho) e b * (amarelo).

4.5 Análises microbiológicas

O desenvolvimento microbiano foi avaliado no início (5 dias) e final (120 dias) do armazenamento para os microrganismos *Salmonella*, estafilococos coagulase positiva e coliformes a 45 °C e aos 5, 40, 80 e 120 dias para os microrganismos psicrotróficos. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Alimentos e Nutrição da FCF/UNESP – Araraquara.

4.5.1 Preparo das amostras e diluições

Após a limpeza e desinfecção das embalagens com álcool iodado, porções de 25g das amostras foram trituradas com 225 mL de água peptonada 0,1%, por 1 minuto em homogeneizador estéril. A partir desta, foram realizadas diluições decimais subsequentes para as contagens de microrganismos psicrotróficos, contagem de estafilococos coagulase positiva e determinação de coliformes totais e termotolerantes.

Para a análise de presença por ausência de *Salmonella* spp foram pesados em copo estéril 25 g de amostra, adicionados de 225 mL de água peptonada tamponada (BPW) e homogeneizados em liquidificador por 1 minuto.

4.5.2 Contagem de microrganismos aeróbios psicrotróficos

Foi utilizado o método de plaqueamento em profundidade em Agar Padrão para Contagem (PCA), com encubação das placas a 7 °C por 7 a 10 dias (DOWNES e ITO, 2001).

4.5.3 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes a 45 °C (termotolerantes)

Foi empregado o método do número mais provável segundo metodologia descrita por ISO 7251 (2005). No teste presuntivo a incubação procedeu-se em séries de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) por diluição, adicionando-se 1,0 mL em cada tubo; e a seguir, incubados a 35 a 37 °C por 24 a 48 h, sendo considerado como positivo os tubos com turvação e produção de gás.

No teste confirmativo de coliformes termotolerantes, transferiu-se uma alçada de caldo LST com resultados positivos para tubos de Caldo EC, a incubação ocorreu em banho-maria a 45,5 °C por 24h, sendo considerados positivos, os tubos com turvação e produção de gás. O Número Mais Provável de coliformes termotolerantes por grama de alimento (NMP.g⁻¹) foi calculado empregando-se tabela de HOSKINS.

4.5.4 Estafilococos coagulase positiva

Utilizou-se a técnica de plaqueamento em superfície (LANCETE e BENNETT, 2001), com meio de cultura de ágar Baird Parker, com incubação a 35 – 37 °C por 48 h. Para a contagem foram selecionadas as colônias típicas (circulares, pretas ou cinzas escuras, com 2 a 3 mm de diâmetro, lisas, convexas, com bordas perfeitas e branqueadas, rodeadas por uma zona opaca e/ou um halo transparente se estendendo além da zona opaca), que foram submetidas a provas confirmatórias: coloração pelo método de Gram, catalase e coagulase.

4.5.5 Pesquisa de *Salmonella* spp

A metodologia adotada para pesquisa de *Salmonella* foi a descrita por ISO 6579 (2007). Para o pré-enriquecimento foi utilizada água peptonada tamponada (BPW) com incubação a 35 – 37 °C por 18 h. Os meios de enriquecimento utilizados foram o Caldo Tetratonato (TT), com incubação a 37 °C e a 41,5 °C por 24 h e o caldo Rappaport-Vassiliadis (RV), com incubação a 41,5 °C por 24 h. Os meios para plaqueamento foram Ágar Sulfito de Bismuto (BS) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), com incubação a 37 °C por 24 h.

Para a confirmação preliminar das colônias foram utilizados Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Ágar Lisina Ferro (LIA) com incubação a 35 °C por 24 h. A confirmação definitiva das colônias foi feita por meio de série bioquímica empregando-se os testes: urease, citrato, descarboxilação da lisina, indol, motilidade, vermelho de metila, Voges-Proskauer e sorologia.

4.6 Análise Sensorial

Para a análise sensorial dos hambúrgueres produzidos com CMS e antioxidantes naturais e armazenados por 5 e 120 dias, foi utilizado o teste de aceitação do consumidor. Os hambúrgueres foram grelhados, com exposição ao calor por 2 minutos de cada lado, cortados em 8 pedaços e mantido em caixa térmica até o momento da análise. Foi utilizado para os testes a escala hedônica estruturada com 9 pontos (1 - "desgostei muitíssimo" a 9 - "gostei muitíssimo"), e uma equipe de 100 julgadores (STONE e SIDEL, 1993).

As amostras foram apresentadas em forma monádica, codificadas em três dígitos, em cabines individuais, e os atributos avaliados foram aparência, cor, sabor, textura e impressão global (Figura 7).

AVALIAÇÃO SENSORIAL

Nome: _____

Data: / /

E-mail: _____

Por favor, leia atentamente as instruções:

Avalie cada amostra, utilizando os valores da escala abaixo para descrever o quanto gostou ou desgostou do produto, quanto às características de aparência, cor, sabor, textura e impressão global das amostras.

9. Gostei muitíssimo

4. Desgostei levemente

8. Gostei muito

3. Desgostei moderadamente

7. Gostei moderadamente

2. Desgostei muito

6. Gostei levemente

1. Desgostei muitíssimo

5. Nem gostei / Nem desgostei (indiferente)

Nº amostra	Aparência	Cor	Sabor	Textura	Impressão Global

Qual amostra você compraria? _____

Comente livremente sobre qualquer uma das características do produto, se achar necessário.

Figura 7. Ficha de avaliação sensorial

4.7 Análises estatísticas

Os resultados obtidos nas análises laboratoriais e teste de aceitação foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para avaliação dos resultados de TBARS foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com Parcelas Subdivididas considerando-se os efeitos principais dos tratamentos (concentrações de antioxidantes) e secundários (os períodos de armazenamento), bem como a interação entre os efeitos principais *versus* secundários. Constatada diferença significativa foi aplicado análise de regressão. As análises estatísticas foram executadas através do software AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agronômicos (BARBOSA e MALDONADO, 2010).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição química da CMS de tilápia

A composição química da matéria-prima (CMS+CMNS) utilizada nas formulações dos hambúrgueres está apresentada na Tabela 2. O teor de umidade 76,77% está próximo ao encontrado por Kirschnick (2007) que obteve 76,61% para a CMS de tilápia. O valor para lipídeos está abaixo dos 10,54% observado por Oliveira Filho et al. (2010), porém acima do obtido (4,66%) por Bordignon et al. (2010).

Tabela 2. Valores da composição química da CMS + CMNS (corte em “V”) de tilápia-do-Nilo.

Nutrientes	Quantidade (g.100g ⁻¹)
Umidade	76,77
Proteína	14,01
Lipídeos	8,15
Cinzas	0,53
Cálcio (mg.100g ⁻¹)	32,0
Magnésio (mg.100g ⁻¹)	18,0
Sódio (mg.100g ⁻¹)	0,81

A variação no teor de lipídeos da CMS pode estar relacionada à presença de porções musculares ventrais na carcaça, que normalmente contem mais gordura do que a dorsal (OGAWA e MAIA, 1999; CONTRERAS-GUZMÁN, 2002) e que é utilizada na obtenção da CMS (KIRSCHNICK, 2007). A utilização do corte em “V” pode, também, ter influenciado o teor de lipídeos da CMS, pois segundo Bordignon et al. (2010) esta apara que é retirada da parte dorsal, contem pequena quantidade de lipídeos (1,93%).

Quanto à proteína, devido à sua concentração (14%) na CMS, valor semelhante ao obtido por Bordignon et al. (2010) (14,63% para CMS e 14,53% para corte em “V”) é possível a sua transformação em produtos nutritivos, aproveitando os resíduos (carcaça) da filetagem da tilápia.

O valor obtido para cinzas, 0,53%, observado para a matéria-prima (90% de CMS + 10% de corte em “V”) de tilápia foi inferior aos 1,08% relatados por Pereira

(2003), aos 1,14% obtidos por Oliveira Filho (2009) e aos 0,87% e 1,12% encontrados para a CMS e corte em “V”, respectivamente por Bordignon et al. (2010), os quais ressaltaram que os valores numericamente maiores para esta matéria prima podem ser atribuídos à presença dos espinhos verticais entre a carne. Para Sikorski (1990), a carne de pescado contém entre 0,6 a 2,0% de minerais e pode ser influenciada pela qualidade da água e alimentação dos peixes.

Em relação aos minerais analisados, valores próximos para o magnésio ($23,4 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$) foram encontrados em filés de pacu (*Colossoma mitrei*) por Machado (1989), e mais elevados para sódio ($29,6 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$) e cálcio ($55,2 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$).

De acordo com Bordignon et al. (2010) uma alternativa interessante para aumentar o consumo do pescado no Brasil, que é baixo pelo desconhecimento do seu potencial nutricional, seria por meio da diversificação na linha de processamento, com a elaboração e oferta de novos produtos e subprodutos. A utilização da CMS com este propósito é promissora, devido a sua fácil digestão e ao conteúdo de nutrientes, tornando-a um produto de alto valor nutricional (RANKEN, 1993).

5.2. Características químicas e físicas dos hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais

Os resultados da composição química dos hambúrgueres, elaborados com CMS de tilápia e com concentrações variadas dos antioxidantes orégano e alecrim, e armazenados por 5 e 120 dias, estão apresentados na Tabela 3.

As formulações dos hambúrgueres influenciaram ($p<0,01$) os teores de umidade e cinzas e de lipídeos ($p<0,05$), sendo que os elaborados com 0,10 e 0,15% de orégano apresentaram maiores teores de umidade (74,86%). Os conteúdos de lipídeos foram próximos entre os tratamentos, havendo diferenças somente entre os elaborados com 0,10% (6,95%) e 0,20% de orégano (6,97%) e os que continham 0,10% (7,31%) e 0,15% de alecrim (7,30%). A porcentagem de cinzas variou significativamente de 1,72% (alecrim 0,20%) a 1,90% (orégano 0,20%), e entre os demais tratamentos os

teores foram semelhantes, com exceção ao alecrim 0,10%. Durante o armazenamento somente a umidade teve seu teor diminuído aos 120 dias.

Tabela 3. Análise de variância (teste F) e teores de umidade, proteína, lipídeos e cinzas dos hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais em concentrações variadas, com 5 e 120 dias de armazenamento.

Fatores	Valores de F			
	Umidade	Proteína	Lipídeos	Cinzas
Antioxidantes (A)	26,28**	13,83**	4,42*	13,26**
Período Armazen. (P)	26,06**	49,14**	1,30 ^{NS}	2,85 ^{NS}
Interação A x P	1,15 ^{NS}	4,73**	1,72 ^{NS}	1,52 ^{NS}
Médias para antioxidantes (A)				
Sem Antioxidante	72,96 ^b	11,81	7,17 ^{ab}	1,81 ^c
Alecrim 0,10%	72,88 ^b	12,29	7,31 ^a	1,88 ^{ab}
Alecrim 0,15%	72,80 ^b	12,29	7,30 ^a	1,80 ^c
Alecrim 0,20%	73,03 ^b	12,90	7,12 ^{ab}	1,72 ^d
Orégano 0,10%	74,86 ^a	11,12	6,95 ^b	1,85 ^{abc}
Orégano 0,15%	74,86 ^a	11,73	7,14 ^{ab}	1,84 ^{abc}
Orégano 0,20%	72,37 ^b	11,51	6,97 ^b	1,90 ^a
Médias para período de armazenamento (P)				
5 dias	73,61 ^a	12,40	7,16 ^a	1,84 ^a
120 dias	73,10 ^b	11,49	7,11 ^a	1,81 ^a

Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

A=antioxidantes usados na elaboração dos hambúrgueres; P=períodos inicial e final de armazenamento.

Em comparação à CMS de tilápia (Tabela 2), a adição dos ingredientes na formulação dos hambúrgueres causou uma diminuição no teor de umidade, em média de 5%, no de proteína de 11,4% e no conteúdo de lipídeos de 12%. O teor de cinzas foi maior devido à adição do sal.

Não foram observadas interações significativas entre as fatores antioxidantes e período de armazenamento para os teores de umidade, lipídeos e cinzas dos hambúrgueres (Tabela 3), porém a proteína foi significativamente afetada. O desdobramento da interação está apresentado na Tabela 4.

Tabela 4. Desdobramento da interação entre antioxidantes e período de armazenamento para os valores de proteína dos hambúrgueres elaborados com CMS de tilápia.

Tratamento	Proteína (%)	
	5 dias	120 dias
Sem Antioxidante	11,87 ^{Ca}	11,75 ^{ABa}
Alecrim 0,10%	13,00 ^{Aba}	11,59 ^{Bb}
Alecrim 0,15%	13,18 ^{Aa}	11,41 ^{Bb}
Alecrim 0,20%	13,10 ^{Aba}	12,70 ^{Aa}
Orégano 0,10%	12,06 ^{Bca}	10,17 ^{Cb}
Orégano 0,15%	11,94 ^{Ca}	11,52 ^{Ba}
Orégano 0,20%	11,70 ^{Ca}	11,32 ^{Ba}

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05\%$).

Os tratamentos que continham alecrim apresentaram no início maiores teores de proteína e aos 120 dias o maior conteúdo foi observado para o tratamento contendo alecrim 0,20% (12,70%) que não diferiu somente do sem antioxidante (11,75%). O menor teor foi proporcionado pelo tratamento com orégano 0,10% (10,17%). Variações significativas entre o início e final do armazenamento nos teores de proteína foram observadas nos tratamentos com alecrim 0,10 e 0,15% e orégano 0,10%.

A composição química dos hambúrgueres assemelhou-se a dos elaborados com CMS de tilápia por Marengoni et al. (2009), que obtiveram valores de umidade de 71 a 77%, de lipídeos de 2 a 10% e de cinzas de 1 a 2%, porém com maiores valores para proteína (15 a 16%) em consequência da sua maior concentração na CMS que foi de 17,74% e também devido às diferenças nas formulações. Os conteúdos de nutrientes dos hambúrgueres também se assemelharam aos dos elaborados por Sary et al. (2009) ao utilizar CMS lavada para o preparo, aos de Bochi et al. (2008) formulados com 80% de CMS de jundiá (*Rhamdia quelen*) (7,24% de lipídeos) e aos desenvolvidos por Badolato et al. (2006) com polpa de pescado (lipídeos 7,24%). Resultados diferentes foram encontrados por Fogaça e Sant'ana (2007) com valores superiores para umidade, proteína e cinzas, e inferiores para lipídeos em hambúrgueres de tilápias alimentadas com tocoferol, e por Pereira et al. (2003) ao desenvolverem “fishburguer”

com polpa de carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) com teor de cinzas muito mais elevado (3,78%).

Embora os teores de lipídeos estejam de acordo com os valores apresentados na literatura, a sua redução pode ser observada por autores que fizeram uso do processo de lavagem da CMS para elaboração de produtos de pescado (NEIVA, 2003, KIRSCHNIK, 2007).

O regulamento técnico de identidade e qualidade de hambúrguer (BRASIL, 2000) preconiza teores máximos de 23% de gordura e teores mínimos de 15% de proteína. O hambúrguer de CMS de tilápia obedece apenas o estipulado para os lipídios, e apresenta limite um pouco inferior para o teor de proteína, embora não exista um padrão para hambúrguer de pescado.

Os valores médios obtidos para TBARS, BNVT e pH dos hambúrgueres durante o armazenamento estão apresentados na Tabela 5, demonstrando que os diferentes antioxidantes influenciaram o índice de oxidação lipídica e os valores de pH durante o período de armazenamento por 120 dias a -18 °C. Não foi observada interação significativa entre estes dois fatores para BNVT.

O malonaldeído (MDA) é um dos principais produtos formados durante o processo oxidativo e é quantificado pela análise de TBARS (KIRSCHNIK, 2007).

As equações e as curvas de regressão que melhores representam os resultados do índice de oxidação durante o armazenamento estão apresentados na Tabela 6 e Figura 8. Os efeitos dos antioxidantes em relação aos períodos de armazenamento foram significativos com maior índice de oxidação inicial para o tratamento contendo alecrim 0,15% (0,30 mg MDA.kg⁻¹) e o menor para o contendo orégano 0,10% (0,22 mg MDA.kg⁻¹). Os tratamentos, sem antioxidante e os que continham alecrim, se oxidaram mais a partir dos 60 dias de estocagem. Para aqueles elaborados com alecrim 0,20%, os índices aumentaram linearmente de 0,26 (início) a 0,38 mg MDA.kg⁻¹ (final) e para os contendo orégano 0,20% não foi observada oxidação durante o período, indicando a capacidade antioxidante desta especiaria, na concentração indicada, no armazenamento do hambúrguer de CMS de tilápia.

Tabela 5. Análise de variância e valores médios para TBARS (mg MDA.kg⁻¹) BNVT (mg N.100g⁻¹) e pH de hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais em concentrações variadas, durante o armazenamento por 120 dias.

Fatores	Valores de F		
	TBARS	BNVT	pH
Antioxidantes (A)	153,08***	1,85 ^{NS}	108,34**
Período Armazenamento (P)	227,16***	3,68*	493,39**
Interação A x P	17,17***	0,20 ^{NS}	9,39**
Médias para antioxidantes (A)			
Sem Antioxidante	0,38	9,84	6,29
Alecrim 0,10%	0,37	9,68	6,33
Alecrim 0,15%	0,37	9,84	6,36
Alecrim 0,20%	0,32	10,19	6,36
Orégano 0,10%	0,27	9,73	6,21
Orégano 0,15%	0,25	9,70	6,22
Orégano 0,20%	0,24	10,12	6,18
Médias para período de armazenamento (P)			
5	0,25	9,65 ^b	6,21
60	0,30	9,86 ^{ab}	6,37
90	0,33	9,92 ^{ab}	6,21
120	0,38	10,06 ^a	6,32

Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05).
A=antioxidantes usados na elaboração dos hambúrgueres; P=períodos de armazenamento.

Tabela 6. Equações de regressão para os valores de TBARS (mg MDA.kg⁻¹) de hambúrgueres de CMS de tilápia-do-Nilo elaborados com antioxidantes naturais e armazenados por 120 dias a -18 °C.

Tratamentos	F	R ²	Equações
Sem Antioxidante	49,20**	0,999	$Y = 0,2634 - 0,00030x + 0,000021x^2$
Alecrim 0,10%	6,21*	0,989	$Y = 0,2389 + 0,0025x - 0,0000076x^2$
Alecrim 0,15%	10,69**	1,000	$Y = 0,3030 - 0,00375x + 0,000010x^2 - 0,00000052x^3$
Alecrim 0,20%	74,21**	0,962	$Y = 0,2625 + 0,000095x$
Orégano 0,10%	10,44**	1,000	$Y = 0,2206 + 0,00424x - 0,000088x^2 + 0,00000051x^3$
Orégano 0,15%	11,59**	0,923	$Y = 0,2387 - 0,000738x + 0,000010x^2$
Orégano 0,20*	-	-	$Y = 0,2423$

* p<0,05 ** p<0,001

Os resultados apresentados estão de acordo com os encontrados por Lee et al. (2005), que não observaram relevante atividade antioxidante de extrato de alecrim adicionados em hambúrgueres suínos irradiados.

A maior eficiência do orégano em relação ao alecrim também foi demonstrada por Piedade (2007) ao avaliar a estabilidade oxidativa de almôndegas de sardinha refrigeradas a 4 °C por 6 dias, embora as duas especiarias na concentração de 10% foram melhores para prevenir a oxidação em relação ao produto controle. Sánchez-Escalante et al. (2003) verificaram que o uso de antioxidantes reduziu significativamente os valores de TBARS em amostras de empanados de carne a 2 °C, quando comparado com o produto controle. Entre 12 combinações avaliadas, os melhores resultados foram obtidos com o tratamento com 500 ppm de orégano e com mistura de orégano e ácido ascórbico.

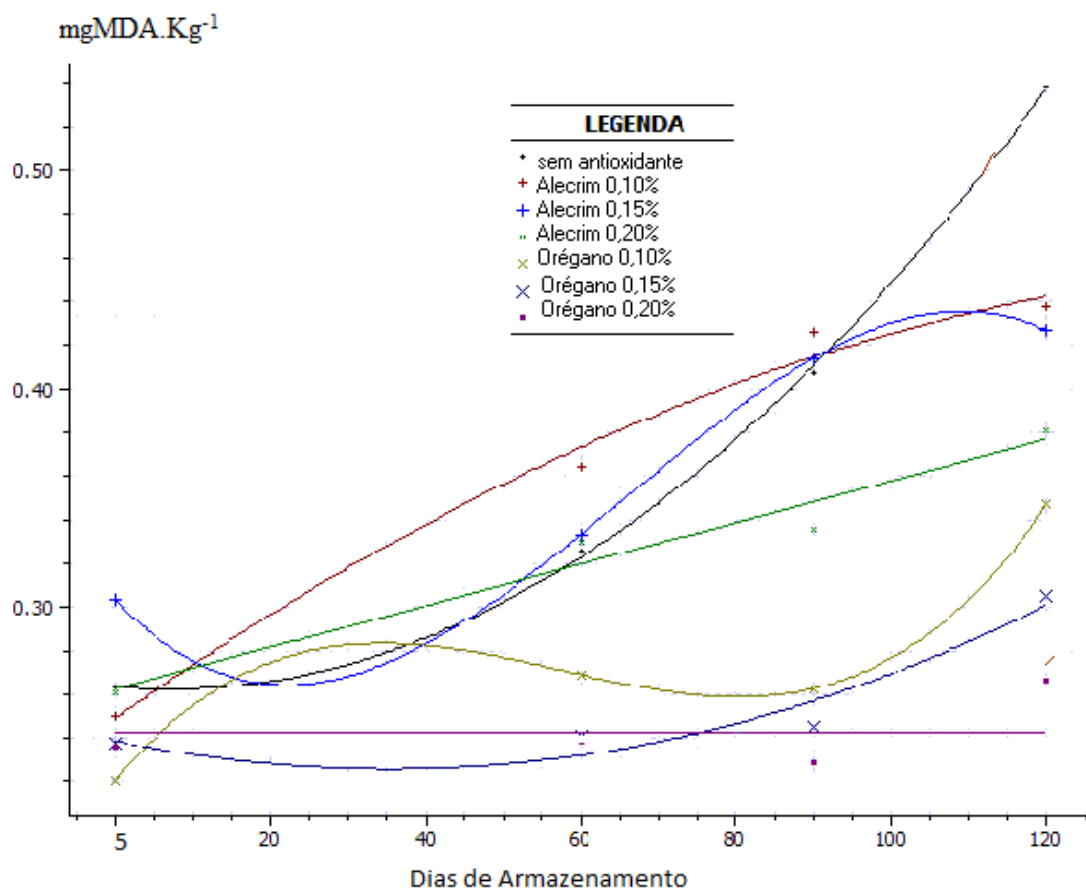


Figura 8. Valores médios de TBARS (mg MDA.kg⁻¹) de hambúrgueres de CMS de tilápia-do-Nilo elaborados com antioxidantes e armazenados por 120 dias a -18 °C.

Em discordância com os resultados obtidos neste estudo, Trindade (2007) demonstrou maior eficácia do alecrim em relação ao orégano para prevenir a oxidação de hambúrgueres bovinos, armazenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 90 dias, com e sem tratamento por radiação.

Bhale et al. (2007) encontraram quantidades similares de compostos fenólicos (catequinas), responsáveis pelo potencial antioxidante, no orégano e no alecrim. Contudo, embora os teores sejam similares, o comportamento desses antioxidantes pode ser diferente sobre as diversas condições de tratamento do produto.

Chen e Chan (1996) demonstraram forte poder antioxidante de quatro catequinas presentes no chá de jasmim e adicionadas em óleo de canola, com posterior aquecimento a $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo o melhor efeito no combate à oxidação observado pela epigallocatequina. Todas as catequinas avaliadas apresentaram melhor ação que o BHT. A capacidade antioxidativa diversa encontrada nas catequinas poderia explicar o fato de produtos com mesmo teor de catequinas apresentarem comportamento diferente na prevenção da oxidação.

Fogaça (2005) verificou que o tocoferol foi capaz de retardar a oxidação lipídica em hambúrgueres de tilápia alimentadas com vitamina E e estocados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 90 dias, sendo mais efetivo na concentração 200 mg.kg^{-1} do que 100 mg.kg^{-1} .

De acordo com a Figura 9, os valores de TBARS oscilaram durante o período avaliado, exceto com uso de orégano 0,20%. Esse comportamento está de acordo com o que foi observado nos hambúrgueres de tilápia estudados por Tokur et al. (2004) e estocados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 8 meses. Pantazi et al. (2008) também demonstraram oscilações nos valores de TBARS em filés de peixe espada estocados em refrigerador sob embalagem normal, a vácuo e em atmosfera modificada.

Todos os tratamentos analisados e em qualquer dos períodos, apresentaram índice de oxidação menor do que $0,576\text{ mg de MDA.kg}^{-1}$, e de acordo com Ke et al. (1984) valores inferiores a este são considerados baixos e os superiores a 1,51 são classificados como produtos rançosos e inaceitáveis para consumo humano. No presente estudo, nos hambúrgueres elaborados sem antioxidantes aos 120 dias, o índice foi $0,53\text{ mg de MDA.kg}^{-1}$, valor que se aproxima ao do limite considerado baixo para pescado.

Os resultados satisfatórios de todos os produtos, garantindo a viabilidade para a utilização na alimentação humana, indicam boas condições da matéria-prima e de armazenamento. A temperatura de estocagem de -18 °C foi suficiente para retardar a oxidação inclusive no produto controle que, embora apresentou valores altos de TBARS quando comparado as demais amostras, especialmente com as formulações com orégano, ainda assim, o produto não se tornou impróprio para consumo aos 120 dias. Herrera et al. (1999) previamente haviam demonstrado que mesmo com a adição de antioxidantes, a temperatura ainda tem influência sobre o processo oxidativo.

Embora, pesquisas recentes tenham demonstrado que embalagens com atmosfera modificada permitam elevar a vida de prateleira de pescados (Pantazi et al., 2008), neste estudo, utilizando embalagem comum, os hambúrgueres de CMS de tilápia-do-Nilo com antioxidantes naturais demonstraram poderem ser consumidos por um período de 120 dias, validade compatível com os hambúrgueres de diferentes animais disponíveis no comércio.

Os resultados obtidos neste estudo, em relação ao uso de antioxidantes naturais na prevenção da oxidação lipídica de hambúrgueres preparados com CMS de tilápia, corroboram com Moraes et al. (2009), Yerlikaya e Gokoglu (2010), dentre outros autores, que propõem o uso de produtos vegetais em substituição os antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos.

As Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT) compreendem diversas substâncias, tais como amônia, trimetilamina e dimetilamina, e são originárias da decomposição de nucleotídeos e da desaminação dos aminoácidos por microrganismos (OGAWA e MAIA, 1999). Os valores médios para os tratamentos contendo orégano e alecrim nas formulações de hambúrgueres de CMS de tilápia e apresentados na Tabela 5, evidenciaram que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, indicando que o frescor dos hambúrgueres não se alterou com a adição dos antioxidantes.

A legislação brasileira (BRASIL, 1997b) estabelece valores abaixo de 30 mg N.100g⁻¹ para pescados e derivados destinados ao consumo humano e, assim sendo, todas as amostras poderiam ser destinadas para consumo, quando considerado como parâmetro de qualidade os valores de BNVT. Os processos de congelamento e

armazenamento dos hambúrgueres foram satisfatórios para inibirem ou retardarem a ação de microrganismos e de enzimas, apesar das variações nos teores de BNVT de 9,65 (início) a 10,62 mg N.100g⁻¹ (final).

Conforme Ogawa e Maia (1999) os pescados com excelente estado de frescor, apresentam valores de BNVT entre 5 e 10 mg N.100g⁻¹, e pescados com frescor razoável, entre 15 e 25 mg N.100g⁻¹.

Moura et al. (2009) encontraram valores entre 5 a 10,5 mg N.100g⁻¹ em filés de tilápia-do-Nilo oriundos do Rio Tietê. E valores superiores (18 a 23 mg N.100 g⁻¹) foram obtidos por Aiura (2007) em filés de tilápia alimentadas com óleo de soja, óleo de linhaça e com a adição ou não de extrato de alecrim, durante 90 dias de estocagem.

Kirschnik (2007) ao avaliar CMS de tilápias não lavadas, com e sem o uso de antioxidante, encontrou valores semelhantes, que oscilaram entre 8,37 e 11,99 mg N.100 g⁻¹ durante o armazenamento por 120 dias. Jesus et al. (2001) observaram a diminuição, embora não significativa, dos valores de BNVT em CMS de peixes amazônicos durante o congelamento, o que foi acompanhada pela concomitante redução da flora microbiana.

Yerlikaya et al. (2010), ao adicionar extratos vegetais (semente de uva, alho e tomate) em preparados de camarão verificaram menores valores de BNVT nos tratamentos em que houve inclusão das substâncias vegetais, armazenados a -20 °C durante 3 meses.

Em contrapartida com o observado neste trabalho, Ozogul et al. (2010) verificaram influencia do extrato de alecrim nos valores de BNVT de sardinhas armazenadas por 20 dias a 4 °C. Os valores encontrados foram de 35, 40 e 45 mg N.100 g⁻¹, e os menores valores foram para sardinhas embaladas a vácuo e mergulhadas em soluções com concentrações de 2% e 1% de alecrim, respectivamente, e o valor mais elevado correspondeu ao grupo controle.

Os resultados apresentados neste trabalho não se assemelharam aos de Varelziz et al. (1997), pois ao avaliarem filés e CMS de peixes tratados com adição de extrato de alecrim, observaram que o aumento nos valores de BNVT foram significativamente superiores nos tratamentos que não foram incluídos o extrato de alecrim, embora todos apresentaram aumento nesses valores no decorrer de 120 dias.

Mexis et al. (2009) demonstraram que o uso de embalagens absorvedoras de oxigênio e a adição de 0,4% de óleo essencial de orégano em filés de trutas arco-íris mantiveram a vida de prateleira do produto em 17 dias e apenas adição do orégano contemplou o produto com 7 a 8 dias de vida útil.

Os valores de pH, embora apresentam variações dentre as espécies de pescado, o método de captura, o manuseio e o armazenamento, sofrem alterações durante a decomposição do produto. A degradação protéica que ocorre nos pescados e em seus derivados gera amônia e aminas, dentre outras substâncias, que resultam no aumento do valor de pH (OGAWA e MAIA, 1999).

As equações e curvas de regressão representativas para as medidas de pH dos diferentes tratamentos, durante o armazenamento a -18 °C por 120 dias estão apresentadas na Tabela 7 e Figura 9. As medidas ficaram compreendidas entre 6,08 e 6,49, estando, portanto, dentro do estabelecido pela legislação vigente (BRASIL,1997a), a qual determina valor de pH inferior a 6,8 para a carne de pescado.

Os menores valores de pH foram observados para as formulações que continham orégano, e entre os tratamentos contendo alecrim, os valores de pH foram menores aos 90 dias de armazenamento.

Os resultados obtidos neste estudo discordam do comportamento do pH em CMS de pescado tratada com extratos de alecrim e estudados por Vareltzis et al. (1997) que observaram aumentos gradativo nos valores em 120 dias a -18 °C, e dos de Corbo et al. (2009) que não encontraram variações de pH em hambúrgueres de bacalhau, com inclusão de extratos vegetais em relação ao produto controle. Entretanto, Nieto et al. (2010) também não observaram mudanças significativas no pH da carne de carneiro, com adição de diferentes concentrações de extrato de alecrim por 21 dias a 4 °C.

Tabela 7. Equações de regressão para as medidas de pH de hambúrgueres de CMS de tilápia-do-Nilo elaborados com antioxidantes naturais e armazenados durante 120 dias a 18 °C.

Tratamentos	F	R ²	Equações
Sem Antioxidante	121,22**	1,000	$y = 6,25000000 + 0,01466204x - 0,00031597 x^2 + 0,00000166x^3$
Alecrim 0,10%	221,21**	1,000	$y = 6,29000000 + 0,02068519x - 0,00043750 x^2 + 0,00000255x^3$
Alecrim 0,15%	269,11**	1,000	$y = 6,29833333 + 0,02293519x - 0,00048333 x^2 + 0,00000248x^3$
Alecrim 0,20%	332,79**	1,000	$y = 6,28833333 + 0,02590741x - 0,00053889 x^2 + 0,00000276x^3$
Orégano 0,10%	115,30**	1,000	$y = 6,15833333 + 0,01511574x - 0,00031319 x^2 + 0,00000162x^3$
Orégano 0,15%	47,50**	1,000	$y = 6,14833333 + 0,01065278x - 0,00020532 x^2 + 0,00000104x^3$
Orégano 0,20%	159,01**	1,000	$y = 6,08833333 + 0,01845833x - 0,00037106 x^2 + 0,00000191x^3$

** p<0,001

Kirschnik (2007) também observou oscilações em relação aos resultados das medidas de pH de CMS de carcaças de tilápia-do-Nilo, lavadas e não lavadas, com e sem aditivos, durante 180 dias de armazenamento a -18 °C. Aiura (2007) encontrou aumento constante dos valores de pH, alcançando a estabilidade após 60º dia em filés de tilápias do Nilo. Bueno et al. (2007) encontraram valores de pH mais elevados, 7,24 a 7,53, para hambúrgueres de pescada com variação do tipo de farinha utilizada e medidos em um único tempo após a fabricação.

Rodrigues (2008) ao submeter tilápias do Nilo evisceradas e estocadas em temperatura de refrigeração a 0,3 °C, constatou que as medidas de pH estiveram de acordo com a legislação vigente apenas até o 18º dia. Tokur et al. (2004) encontraram medidas de pH entre 7 e 8 para hambúrgueres de tilápia estocados a -18 °C, entretanto, valores de TBARS, BNVT e a análise sensorial, indicaram o produto como de boa qualidade, apesar do valor de pH estar acima do indicado.

Oliveira Filho et al. (2010) ao medir o pH de salsichas elaboradas com CMS de tilápia observou queda no valor durante o período de estocagem por 40 dias a 0 °C. De acordo com Franz e Holy (1996) esta situação é decorrente da acidificação do meio causado por bactérias lácticas, psicrotróficas e competidoras das bactérias patogênicas.

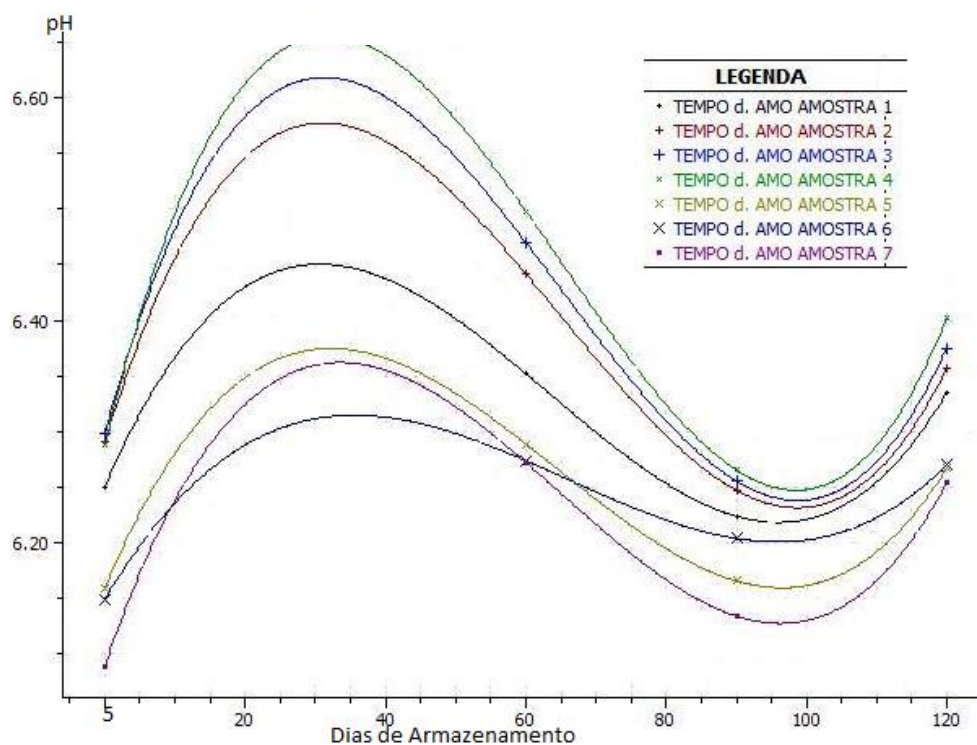


Figura 9. Medidas de pH de hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais e armazenados por 120 dias a -18 °C.

5.3 Cor instrumental

Os valores médios referentes à cor instrumental, avaliada pela luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*) estão apresentados na Tabela 8, e foram observadas variações significativas entre os tratamentos e os períodos de armazenamento para todos os parâmetros. A interação entre os fatores foi significativa somente para a^* .

Com relação a luminosidade o maior valor foi obtido para o tratamento sem antioxidante. Entre as especiarias a luminosidade foi maior para os tratamentos contendo alecrim, porém sem interferência das concentrações. Em relação ao período de armazenamento, aos 120 dias foi observado o maior valor para a luminosidade. Alterações químicas causadas pelas reações de oxidação ou outros processos

deteriorativos podem provocar alteração na cor, deixando o produto mais escuro (OGAWA e MAIA, 1999).

Tabela 8. Análise de variância (teste F) e valores médios cor instrumental de hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais em concentrações variadas, durante o armazenamento por 120 dias..

Fatores	Valores de F		
	L*	a*	b*
Antioxidantes (A)	27,16**	49,48**	0,74**
Período Armazenamento (P)	6,65**	74,10**	34,28**
Interação A x P	1,84 ^{NS}	8,29**	1,20 ^{NS}
Médias para antioxidantes (A)			
Sem Antioxidante	69,45 ^a	1,15	14,04 ^a
Alecrim 0,10%	66,65 ^b	0,63	13,24 ^{ab}
Alecrim 0,15%	66,67 ^b	0,84	13,16 ^{ab}
Alecrim 0,20%	66,53 ^b	0,81	12,79 ^b
Orégano 0,10%	64,10 ^c	0,28	12,56 ^b
Orégano 0,15%	62,96 ^c	0,22	12,66 ^b
Orégano 0,20%	64,69 ^{bc}	0,49	13,29 ^{ab}
Médias para período de armazenamento (P)			
5	65,36 ^{bc}	0,91	12,90 ^b
60	65,06 ^c	0,85	12,30 ^c
90	66,35 ^{ab}	0,38	13,90 ^b
120	66,68 ^a	0,38	14,00 ^{ab}

Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

A=antioxidantes usados na elaboração dos hambúrgueres; P=períodos de armazenamento.

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com os encontrados por Oliveira Filho (2009), ao avaliar salsichas elaborados com diferentes teores de CMS de tilápia durante 40 dias de armazenamento a 0 °C, com valores compreendidos entre 65 e 68. Bochi et al. (2008) também encontraram valores bem semelhantes (64-68) para hambúrgueres com diferentes teores de CMS de jundiá.

Ao contrário do que foi observado neste estudo, Nieto et al. (2010) não observaram a influência significativa da adição de alecrim nos valores de L* em carne de ovelha quando comparadas com produto controle, entretanto, os teores de luminosidade variaram durante o período de armazenamento.

Embora as formulações com orégano e alecrim revelaram valores significativamente diferentes do tratamento sem antioxidante, não foi possível estabelecer uma relação entre a adição das especiarias e os valores de L^* , uma vez que os tratamentos contendo orégano e que menos se oxidaram durante os 120 dias, foram os que se apresentaram menos luminosos, portanto mais escuros, durante o período analisado.

A intensidade de amarelo (b^*) foi maior para o tratamento sem antioxidante (14,04), a qual se assemelhou aos que continham alecrim 0,10 e 0,15% e ao com orégano 0,20%. A adição e as concentrações de alecrim ou orégano nas formulações dos hambúrgueres não alteraram este parâmetro de cor, uma vez que os tratamentos que as continham não diferiram entre si. Com o armazenamento os valores de b^* dos hambúrgueres foram maiores aos 120 dias (14,00) e a menor intensidade de amarelo foi verificada aos 60 dias (12,30).

Oliveira Filho (2009) constatou variações nos valores de b^* com a inclusão de CMS de tilápia na elaboração de salsichas, durante o armazenamento a 0 °C por 40 dias, diminuindo de 16,55 (ausência de CMS) para 11,45 (100% de CMS) e Moreira (2005) obteve valor de b^* de 12,54 para salsichas de filé de tilápia.

O desdobramento da interação para a intensidade da cor vermelha, representado pelas equações e curvas de regressão, está apresentado na Tabela 9 e Figura 10. Todos os tratamentos apresentaram valores baixos para este parâmetro, contudo, houve variação entre eles. O tratamento sem antioxidante apresentou maior intensidade e os que continham orégano as menores médias, as quais permaneceram constante durante o armazenamento. A diminuição da coloração vermelha para os tratamentos com alecrim 0,15 e 0,20% foi linear, e ao final dos 120 dias, todos os tratamentos apresentaram valores de a^* semelhantes. Estes resultados podem estar associado à pequena quantidade de músculo vermelho no resíduo da filetagem da tilápia, utilizado na obtenção da CMS.

Para Oliveira Filho (2009) a inclusão de CMS diminuiu os valores de a^* de 2,95 para salsichas formuladas com filé para 2,25 para com 100% de CMS de tilápia, o que foi atribuído à presença de músculos vermelhos nos filés, e a coloração mais escura da

CMS devido a presença das nadadeiras nos resíduos de filetagem. Entretanto, Bochi et al. (2008) ao avaliar diferentes teores de inclusão de CMS em hambúrgueres de jundiá, constatararam que os valores de a^* aumentaram em função do aumento desses teores.

Tabela 9. Equações de regressão para os valores de a^* dos hambúrgueres de CMS de tilápia armazenados a -18 °C por 120 dias.

Tratamentos	F	R ²	Equação
Sem Antioxidante	53,20**	1,000	$y=1,09331796 + 0,11080920x - 0,00230626x^2 + 0,00001123x^3$
Alecrim 0,10%	10,19**	1,000	$y=0,83944561 + 0,04350459x - 0,00099221x^2 + 0,00000492x^3$
Alecrim 0,15%	60,57**	0,9954	$y = 1,40800265 - 0,00814570x$
Alecrim 0,20%	60,11**	0,9329	$y = 1,36857143 - 0,00811457x$
Orégano 0,10%	-	-	$y=0,28555556$
Orégano 0,15%	-	-	$y=0,22263889$
Orégano 0,20%	-	-	$y=0,49611111$

** p<0,001

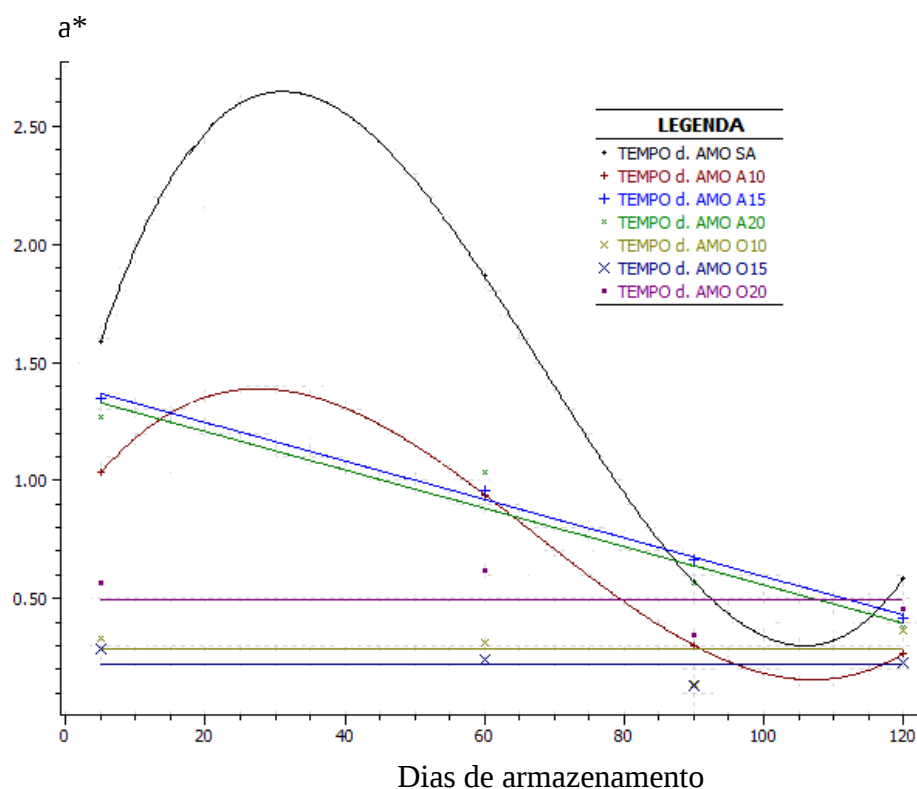


Figura 10. Valores de a^* em hambúrgueres de CMS de tilápia com adição de antioxidantes naturais e armazenados a -18 °C por 120 dias.

5.4 Análises microbiológicas

A flora microbiana do pescado está relacionada às condições ambientais em que o peixe está inserido. Para peixes refrigerados a temperaturas inferiores a 4 °C, os microrganismos aeróbios mais comuns são *Pseudomas*, no entanto, existem outros microrganismos específicos envolvidos na deterioração, dependendo do habitat do peixe, água doce ou salgada, e da temperatura da água. (GRAM e HUSS, 1996).

Todas as formulações produzidas neste trabalho foram submetidas às análises microbiológicas estipuladas pela legislação vigente aos 5 dias (tempo inicial) e 120 dias (tempo final) de armazenamento, para que dessa forma, fosse possível verificar a possibilidade para o consumo dos hambúrgueres, com segurança, durante a análise sensorial e garantir a viabilidade da produção.

Pelos resultados das análises microbiológicas não foram detectadas as bactérias patogênicas *Salmonella* e Estafilococos coagulase positiva nos dois períodos avaliados. Em relação aos coliformes totais a 45 °C, os hambúrgueres contendo orégano a 0,10% e 0,15% apresentaram contagem inicial de 4 NMP.g de amostra⁻¹ e os demais apresentaram valores <3 NMP.g de amostra⁻¹, tanto no período inicial quanto no final de armazenamento a -18° C, atestando, assim, que todas as amostras apresentaram inicialmente boa qualidade microbiológica e permaneceram adequadas para consumo, durante o período de estocagem por 4 meses.

A higiene e as boas práticas de fabricação são imprescindíveis durante todo o processo de preparação do produto, uma vez que a legislação atual não engloba todos os possíveis patógenos que poderiam ser veiculados pelo alimento. Martins (2006) ao avaliar carne de pescado crua destinada ao preparo de *sashimi* e *sushi* na cidade de São Paulo encontrou microrganismos patógenos; tais como espécies de *Aeromonas*, que, embora não citadas pela legislação vigente, são patogênicas ao homem. As bactérias *Serratia liquefaciens* e *Hafnia alvei*, consideradas patógenos oportunistas foram isoladas de peixes vendidos na Suécia, e do total de pescados investigados, 31% apresentaram pelo menos uma espécie de microrganismo da família *Enterobacteriaceae* (LINDBERG, 1998).

Na Tabela 10 estão apresentados, em log de UFC.g⁻¹, os resultados da contagem de bactérias aeróbias psicrotróficas realizada em hambúrgueres de CMS de tilápia com 5, 40, 80 e 120 dias de armazenamento a -18° C. Observou-se que o tratamento sem antioxidante e o elaborados com alecrim nas menores concentrações não sofreram redução na população de microrganismos psicrotróficos, sendo este efeito observado para o tratamento com a maior quantidade de alecrim (0,20%). O tratamento sem antioxidante apresentou, numericamente, a menor contagem aos 5 dias de armazenamento, e aos 120 dias praticamente, não foi observada nenhuma redução no número de organismos.

Tabela 10. Contagem de bactérias aeróbias psicrotróficas (log₁₀ UFC.g de amostra⁻¹) de hambúrgueres de CMS de tilápia-do-Nilo elaborados com antioxidantes e armazenadas por período de 120 dias a -18°C.

Tratamentos	Tempo de Armazenamento (dias)			
	5	40	80	120
Sem Antioxidante	3,181844	3,176091	3,167317	3,100371
Alecrim 0,10%	4,633468	4,50515	4,230449	4,385606
Alecrim 0,15%	4,518514	4,591065	4,227887	4,462398
Alecrim 0,20%	4,633468	4,491362	3,212188	3,278754
Orégano 0,10%	5,082785	5,130334	4,477121	4,531479
Orégano 0,15%	5,332438	5,093422	4,447158	4,39794
Orégano 0,20%	4,698970	4,037426	2,919078	2,908485

UFC = Unidade Formadora de Colônia

A ação antimicrobiana foi verificada nos tratamentos elaborados com orégano, com o melhor desempenho para os tratamentos contendo 0,20% desta especiaria, visto que, em comparação com a contagem de microrganismos psicrotróficos aos 5 dias de armazenamento, sofreu redução de 2 algarismos ao ser analisado ao final do experimento (120 dias). Sahin et al (2004) também demonstraram que o orégano possui atividade antimicrobiana perante algumas bactérias patogênicas e de interesse em alimentos, compreendendo a *Escherichia coli*, *Salmonella* spp e *Staphylococcus aureus*.

Corbo et al. (2008) verificaram potencial de inibição do alecrim em relação a bactéria *P. phosphoreum*, responsável pela deterioração de pescados, em experimentações *in vitro*. Em hambúrgueres de bacalhau com adição de timol; substância presente no orégano, e uso de atmosfera modificada constataram grande inibição de microrganismos aeróbios psicrotróficos deteriorantes, seguidos por diminuição da população de bactérias produtoras de sulfeto de hidrogênio, coliformes e *Enterobacteriaceae*, bactérias psicrotróficas e *Pseudomas ssp.*, armazenadas a 4 °C por 9 dias. Mexis et al. (2009) demonstraram que o uso de embalagens absorvedoras de oxigênio e a adição de 0,4% de óleo essencial de orégano em filés de trutas arco-íris mantiveram a vida de prateleira do produto em 17 dias, usando como parâmetros de avaliação as análises sensoriais e microbiológicas. Somente a adição do orégano contemplou o produto com 7 a 8 dias de vida útil, enquanto apenas o uso da embalagem especial aumentou a vida para 13-14 dias, e, sem a ausência dessas duas variáveis, os filés de truta arco-íris seriam próprios ao consumo apenas por 4 dias.

Bordignon et al. (2010) ao avaliar microbiologicamente as aparas do corte em “V” e a CMS de tilápia usada na elaboração de croquetes encontraram valores para microrganismos psicrotróficos semelhantes aos encontrados neste trabalho ($3,6 \times 10^3$ e $2,0 \times 10^4$ UFC/g). Esses valores foram drasticamente reduzidos, sendo inferior a 10 UFC/g, quando os croquetes foram analisados prontos e pré-fritos, todavia, neste trabalho, os hambúrgueres de CMS apenas foram analisados em sua forma crua. Sultanbawa et al. (2009) relataram atividade antimicrobiana do orégano frente *S.aureus* e *E. coli*.

Embora o número elevado de microrganismos psicrotróficos possa reduzir a qualidade da carne, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) não estabelece valores limites para a presença destes microrganismos. O *International Commission on Microbiological Specifications* - ICMSF (1986) determina que a contagem padrão em placas de microrganismos aeróbios não deve ultrapassar 10^7 UFC.g⁻¹. Assim, os valores obtidos no presente estudo com variação de $8,1 \times 10^2$ (2,908485 log) a $2,15 \times 10^5$ (5,332438 log) UFC.g⁻¹, em qualquer um dos produtos e períodos analisados, confirmam as boas práticas na obtenção da CMS, fabricação e armazenamento dos hambúrgueres.

Os resultados microbiológicos encontrados neste trabalho concordam com Corbo et al. (2008) que demonstraram que compostos naturais podem prolongar a vida de prateleira de produtos embalados, de forma barata e simples quando comparados com outros métodos de preservação como irradiação, culturas protetoras ou tratamentos de alta pressão.

Embora este estudo tenha indicado a boa qualidade do produto, a responsabilidade para o consumo de alimentos seguros não é apenas da indústria, mas também dos consumidores que devem adotar práticas para evitar a contaminação dos alimentos (TODD, 2004)

5.5 Análise Sensorial

A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos para a análise sensorial dos hambúrgueres elaborados com CMS de tilápia e com antioxidantes naturais, armazenados por 5 dias a -18°C . Os atributos sensoriais aparência e cor não sofreram variações significativas ($p < 0,05$) com a adição do orégano e do alecrim, mas os demais atributos sensoriais foram influenciados pelos antioxidantes e concentrações utilizadas.

Em relação ao atributo sabor todas as amostras contendo alecrim em sua composição foram as que apresentaram as menores notas pelos provadores. Os tratamentos com orégano foram os mais aceitos, independente da concentração, e o sabor foi semelhante ao sem oxidante. O hambúrguer elaborado com alecrim 0,20% recebeu média 5,64; que corresponde a um valor intermediário entre 5 e 6 na escala hedônica, equivalendo-se a “nem gostei/nem desgostei (indiferente)” e “gostei levemente”, respectivamente. Enquanto que o produto elaborado com orégano 0,20% obteve o valor médio 6,96; que está muito próximo de 7 na escala hedônica, que significa “gostei moderadamente”.

Para o atributo textura, o hambúrguer elaborado com alecrim 0,20% foi o menos aceito pelos provadores, em comparação ao hambúrguer com orégano 0,20%, e depois ao sem antioxidante e ao com orégano 0,15% e 0,10%.

A impressão global define a aceitação da amostra como um todo e foi um dos atributos que mais variou. Os tratamentos os quais foram atribuídos as maiores notas foram aqueles que continham orégano e o tratamento sem antioxidante. Os tratamentos com alecrim foram os que apresentaram as piores notas, e o que continha a maior concentração foi o que menos agradou os provadores, indicando a interferência desta especiaria na aceitação do hambúrguer de CMS de tilápia. Fato este, que pode estar associado à falta de hábito pelo consumo de produtos com este condimento.

Tabela 11. Avaliação sensorial de hambúrguer elaborado com CMS de tilápia e com antioxidantes naturais, armazenadas a -18 °C por 5 dias.

Tratamentos	Aparência	Cor	Sabor	Textura	Impressão Global
Sem Antioxidante	6,65	6,62	6,82 ^a	6,72 ^{ab}	6,71 ^a
Alecrim 0,10%	6,59	6,53	5,90 ^c	6,35 ^{ab}	6,18 ^{bc}
Alecrim 0,15%	6,81	6,69	6,02 ^{bc}	6,56 ^{ab}	6,20 ^{bc}
Alecrim 0,20%	6,60	6,43	5,64 ^c	6,16 ^b	5,92 ^c
Orégano 0,10%	6,73	6,54	6,73 ^a	6,66 ^{ab}	6,69 ^{ab}
Orégano 0,15%	6,53	6,41	6,55 ^{ab}	6,67 ^{ab}	6,56 ^{ab}
Orégano 0,20%	6,35	6,18	6,96 ^a	6,78 ^a	6,76 ^a
Teste F	NS	NS	***	***	***

^{a,d} Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05)

*** p<0,0001; CV - Coeficiente de variação

As especiarias exercem bastante influenciam na opinião dos consumidores, pois preparações de camarão com extrato de alho foram mais aceitas sensorialmente que quando usados extrato de tomate ou semente de uvas, mesmo não sendo a que obteve melhor resposta na prevenção da rancidez (YERLIKAYA et al., 2010). Para Selgas et al. (2009), a adição de pele de tomate em hambúrgueres foi eficaz ao mascarar as alterações sensoriais provocadas durante o processo de irradiação.

A Tabela 12 apresenta os resultados obtidos para a análise sensorial dos hambúrgueres elaborados com CMS de tilápia e com antioxidantes naturais, armazenados por 120 dias a -18° C. Todos os atributos sensoriais avaliados sofreram variações significativas com a utilização dos antioxidantes em concentrações variadas.

Tabela 12. Avaliação sensorial de hambúrguer elaborado com CMS de tilápia e com antioxidantes naturais, armazenadas por 120 dias a -18 °C.

Tratamentos	Aparência	Cor	Sabor	Textura	Impressão Global
Sem Antioxidante	7,04 ^{bc}	6,94 ^{ab}	6,91 ^{bcd}	7,15 ^{bc}	7,09 ^{bc}
Alecrim 0,10%	7,45 ^{ab}	7,21 ^a	7,26 ^{abc}	7,36 ^{abc}	7,50 ^{ab}
Alecrim 0,15%	7,06 ^{bc}	6,99 ^{ab}	6,80 ^{cd}	7,09 ^{bc}	7,09 ^{bc}
Alecrim 0,20%	6,96 ^c	6,90 ^{ab}	6,59 ^d	6,97 ^c	6,79 ^c
Orégano 0,10%	7,58 ^a	7,33 ^a	7,76 ^a	7,78 ^a	7,79 ^a
Orégano 0,15%	6,91 ^c	6,71 ^b	7,11 ^{bcd}	7,15 ^{bc}	7,18 ^{bc}
Orégano 0,20%	7,13 ^{bc}	7,00 ^{ab}	7,46 ^a	7,51 ^{ab}	7,49 ^{ab}
Teste F	***	**	***	***	***
CV (%)	14,61	15,84	18,61	14,95	15,05

^{a,d} Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05)

^{NS} Não significativo; *** p<0,0001; CV - Coeficiente de variação

A aparência foi o primeiro atributo avaliado, e os tratamentos com orégano 0,10% e alecrim 0,10% obtiveram as melhores avaliações, não havendo diferenças entre os demais tratamentos.

Dos parâmetros avaliados no final do período de armazenamento, a cor foi o atributo que sofreu menos variação, havendo apenas diferença significativa entre os tratamentos com orégano 0,10% e alecrim 0,10%, que obtiveram as maiores notas, em relação ao que continha orégano 0,15%, que recebeu a pior avaliação (6,71).

O sabor foi o atributo sensorial mais influenciado pelos antioxidantes, e os tratamentos com orégano 0,10% e 0,20% foram os que mais agradaram os provadores, e diferiram de todos os outros, exceto do elaborado com alecrim 0,10%, aos 120 dias de armazenamento. A formulação menos apreciada pelos provadores foi a que

continha alecrim 0,20%, embora não tenha apresentando diferença significativa em relação às formulações sem antioxidante, alecrim 0,15% e orégano 0,15%. Todos os tratamentos contendo orégano e o tratamento com alecrim 0,10% obtiveram notas maiores que 7,0 para o sabor, porém menores que 8,0, fato que os colocam entre a posição “gostei moderadamente” e “gostei muito” em relação ao sabor.

Os atributos sensoriais textura e impressão global foram melhores avaliadas para os hambúrgueres elaborados com orégano 0,10%, e piores para os que continham alecrim 0,20% ao final do período de estocagem, sugerindo que a concentração desta especiaria foi perceptível e não muito bem tolerada pelos julgadores. Ao contrário dos resultados obtidos, Lee et al. (2005) observaram que a adição de alecrim em hambúrgueres suínos aumentou a aceitação do produto, que pode ser explicado pelo fato do alecrim mascarar os efeitos sensoriais da irradiação a que o produto foi submetido.

A elaboração de hambúrguer com CMS de tilápia oferece uma alternativa ao consumo de alimentos a base de pescado, e o uso do orégano como antioxidante é promissor para prevenir a oxidação lipídica, além de ter assegurada a sua aceitação, de fundamental importância no processo de desenvolvimento de produtos, pelos provadores. Aliada a estas conveniências, os estudos realizados por Santa Rosa (2009) mostraram que os indicadores econômicos avaliados para o aproveitamento integral dos resíduos da filetagem da tilápia para unidades processadoras de pequeno e médio porte foram positivos, indicando, assim, a viabilidade do investimento.

6 Conclusões

Os resultados obtidos permitem afirmar que:

- os antioxidantes naturais, orégano e alecrim, influenciam o processo oxidativo de hambúrgueres de CMS de tilápia , sendo que orégano é mais eficiente para impedir a oxidação e o desenvolvimento microbiano, durante o congelamento por 120 dias.

- elaboração de hambúrguer com CMS de tilápia do Nilo e com antioxidantes naturais é uma alternativa para o consumo de alimentos a base de pescado, com aceitação favorável.

7. Referências Bibliográfica

AFONSO, M.S. et al Atividade antioxidante e antimicrobiana do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em filés de tilápia (*Oreochromis ssp*) salgados secos durante o armazenamento congelado. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.10, n.2, p.12-17, 2008.

AIURA, F. S. **Ação do extrato de alecrim e fontes de óleo na qualidade de filés de tilápia do nilo**. Tese (Doutorado em Aqüicultura), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Centro de Aqüicultura/UNESP - Jaboticabal. 2007.

AIURA, F. S.; CARVALHO, M. R. B. . Composição em ácidos graxos e rendimento de filé de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada com dietas contendo tanino. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 99, n. 550, p. 93-98, 2004.

ALLEN, J.C.; HAMILTON, R.J. Rancidity in foods. Blackis Academic and professional. 1994, 290p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16 ed. Arlington: AOAC, 1995, v.2.

BADOLATO, G. G.; ALMEIDA, C.P.M.; LIMA, U.A. Desenvolvimento de uma formulação de hamburguer de peixe com farinha de banana. **Higiene Alimentar**, v. 20, p. 45-49, 2006.

BANIAS, C.; OREOPOULOU, V.; THOMOPOULOS, C. D. The effect of primary antioxidants and synergists on the activity of plant extracts in lard. **Journal American Oil Chemical Society**, v.69, p.520-524, 1992.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JR, W. **AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agrônomicos**, versão 1.0, 2010.

BHALE, S.D. et al. Oregano and Rosemary Extracts Inhibit Oxidation of Long-Chain n-3 Fatty Acids in Menhaden Oil. **Journal of Food Science**, vol. 72, n. 9, p. 504-508, 2007.

BOCHI, V.C. et al. Fishburgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting residue. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8844–8849, 2008.

BORDIGNON, A.C. et al. Elaboração de croquete de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a partir de CMS e aparas do corte em 'V' do filé e sua avaliação físico-química, microbiológica e sensorial. **ActaScientiarum Animal Sciences**, v. 32, n. 1, p. 109-116, 2010.

BOYD, L.C.; GREEN, D.P.; GIESBRECHT, F.B. et al. Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked flakes by tert-butylhydroquinone and rosemary extract. **Journal of Science and Food Agricultural**, v.61, p.87-93, 1993.

BRAGAGNOLO, N.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L.H. Effect of rosemary on lipid oxidation in pressure-processed, minced chicken breast during refrigerated storage and subsequent heat treatment. **European Food Research and Technology** , v. 221, p. 610–615, 2005.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. Informações e Estatísticas. Estatística da Pesca e Aquicultura. Estatística da Pesca e Aquicultura no Brasil 2008/2009. Informações Disponível em: <http://www.mpa.gov.br>. Acessado em 15 de dezembro de 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 12, de 2 de janeiro 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 de janeiro 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa nº 20. Anexo IV. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 3 de agosto de 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA. Aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952 e alterado pelo Decreto nº 2.444 de junho de 1997. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 5 de junho de 1997. a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n.185, de 13 de maio de 1997. Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 19 de maio de 1997.b.

BUENO, F. M. et al. Elaboração de Hamburgueres de Pescada (*Cynoscion striatus*) com a Utilização de Diferentes Agentes Texturizantes. In: Congresso de Iniciação Científica, XVI . 2007. Pelotas. **Anais**. Pelotas. 2007. 5p.

CAKLI, S. et al. Production and quality of fish fingers from different fish species. **European Food Research and Technology**, v. 220, p.526–530, 2005.

CAMPO, J. D.; AMIOT, M.J.; NGUYEN-THE, C. Antimicrobial effect of rosemary extracts. **Journal of Food Protection**, v.63, p.1359-1368, 2000.

CAPECKA, E.; MARECZEK, A.; LEJA, M.. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. **Food Chemistry** v.93, p. 223-226, 2005.

CASTRO, F. A. F. et al. Fatty acid composition of three freshwater fishes under different storage and cooking processes. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1080–1090, 2007.

CHEN, Z. Y.; CHAN, P. T. Antioxidative activity of green tea catechins in canola oil. **Chemistry and Physics of Lipids**, v.82, p.163 – 172, 1996.

CHEN, Z. Y. et al. Antioxidant activity of natural flavonoids is governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups. **Chemistry and Physics**, Hong Kong, v. 79, n. 2, p. 157-163, 1996.

CINTRA, R. M. G.; MANCINI-FILHO, J. Efeito antioxidante de especiarias: avaliação e comparação de métodos *in vitro* e *in vivo*. **Nutrire**, v.22, p. 49-62, 2001.

CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. **Bioquímica de pescados e invertebrados**. Santiago: Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos - Universidad de Santiago de Chile, 2002, 309p.

CORBO, M.R. et al. Study on the synergic effect of natural compounds on the microbial quality decay of packed fish hamburger. **International Journal of Food Microbiology**, v. 127, p. 261–267, 2008.

CORBO, M.R. et al. Thymol and modified atmosphere packaging to control microbiological spoilage in packed fresh cod hamburgers **International Journal of Food Science and Technology** , vol. 44, 1553–1560, 2009.

COSGROVE, J.P.; CHURCH, D.F.; PRYOR, W.A. The kinetics of autoxidation of polyunsaturated fatty-acids. **Lipids**, v.22, n.5, p.299-304, 1987.

DAOUK, K.D., DAGHER, M.S., SATTOUT, J.E. Antifungal activity of the essential oil of *Origanum syriacum* L. **Journal of Food Protection**, v. 58, p.1147-1149, 1995.

DESTRO, M. T. Incidence and significance of *Listeria* in fish and fish products from Latin America. **International Journal of Food Microbiology**, v.62, p. 191 – 196, 2000.

DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001.

EYMARD, S. et al. Development of lipid oxidation during manufacturing of horse mackerel surimi. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, p.1750–1756, 2005.

FAO/WHO **Draft revised Standard for quick frozen blocks of fish fillets, minced fish flesh and mixtures of fillets and minced fish flesh** (Appendix IV). Codex Alimentarius Commission, Report of the 21st Session the Codex Committee on Fish and Fishery Products. Roma.1994. p. 47-57.

FOGAÇA, F. H. S. **Efeito do tocoferol no desempenho e na estabilidade lipídica da Tilápia nilótica (Oreochromis niloticus)**. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP - Jaboticabal. 2005.

FOGAÇA, F.H.S.; SANT'ANA, L.S. Tocopherol in the lipid stability of tilapia (*Oreochromis niloticus*) hamburgers. **Food Chemistry**, vol. 105 , p. 1214–1218, 2007.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**, São Paulo, Editora Atheneu .1996. 174p.

FRANKEL, E.N.; et al. Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p.131-135, 1996.

FRANKEL, E. N. Lipid oxidation. **Prog. Lipid Res.**, v.19, p.1-22, 1980.

FRANZ, C.M.A.P.; HOLY, A.V. Bacterial populations associated with pasteurized vacuum-packed Vienna sausages. **Food Microbiology**, vol. 13, p. 165-174, 1996.

FRONING, G. W. Mechanical deboning of poultry and fish. **Advances in Food Research**. v. 27, p. 109-147, 1981.

GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. et al. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). **Food Hydrocolloids** , vol. 21, p. 1133–1143, 2007.

GOKOGLU, N.; YERLIKAYA, P. Use of eye fluid refractive index in sardine (*Sardina pilchardus*) as a freshness indicator. **European Food Research and Technology** , vol. 218, p. 295–297, 2004.

GRAM, L.; HUSS, H. H. Microbiological spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 121 – 137, 1996.

GUERRA, N.B.; LAJOLO. F. M. Ação antioxidante de especiarias face diferentes atividades de água. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 45-50, 2005.

GUYNOT, M. E. et al. Screening for Antifungal Activity of Some Essential Oils Against Common Spoilage Fungi of Bakery Products. **Food Science and Technology International**; v. 11, n.1, p. 25–32, 2005.

HALLIWELL, B. et al. The characterization of antioxidants. **Food Chemistry Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.

HENTZ, S. M.; SANTIN, N. C. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) contra *Salmonella* sp. **Evidência**, v. 7, n. 2, p. 93-100, 2007

HERRERA, J. J. et al. Effect of Various Cryostabilizers on the Production and Reactivity of Formaldehyde in Frozen-Stored Minced Blue Whiting Muscle. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 47, p. 2386-2397, 1999.

HOWGATE, P. Determination of total volatile bases. **Torry Research Station, Aberdeen**, 1976. TD 564, Appendix 4.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specification for Foods. Microorganisms in foods. **2-Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications**. Toronto: University of Toronto Press, 1986.

ISO - International Organization for Standardization 6579. Microbiology of food and animal stuffs – **Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.**, 4^{ed}. 2002. The International Organization for Standardization, 2007.

ISO - International Organization for Standardization 7251. Microbiology of food and animal stuffs – **Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* - most probable number technique**. 3rd ed. The International Organization for Standardization, 2005.

JERKOVIC, I.; MASTELIC, J.; MILOS, M. Chemical composition and oxidant effect of glicosidically bound volatile compounds from orégano (*Origanum vulgare* L. spp. *hirtum*). **Food Chemistry**, v. 36, p.649-654, 2001.

JESUS, R.S.; LESSI, E.; TENUTA-FILHO, A. Estabilidade Química e Microbiológica de “Minced Fish” de Peixes Amazônicos Durante o Congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n.2, p. 144-148, 2001.

KE, P.J.; CERVANTES, E.; ROBLE-MARTINEZ, C. Determination of thiobarbituric acid reactive substances (tbars) in fish tissue by an improved distillation spectrophotometric method. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 35, p. 1248-1254, 1984.

KIRSCHNIK, P. G. **Avaliação da estabilidade de produtos obtidos de carne mecanicamente separada de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)**. Tese (Doutorado em Aquicultura), Universidade Estadual Paulista, UNESP- Jaboticabal, 2007.

KUBOW, S. Lipid oxidation products in food and atherogenesis. **Nutrition Reviews**, v.51, n.2, p.33-40, 1993.

KUHN, C.R.; SOARES, G. J. D. Proteases e inibidores no processo de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 8, n. 1, p. 5-11, 2002.

LANCETE, G. A.; BENNETT, R.W. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcal* enterotoxins. In: DOWNES, F.P. & ITO, K. (Ed.) **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington D.C.: SHERIDAN, 2001. p.387-404.

LEE, J. et al. Combined effects of gamma irradiation and rosemary extract on the shelf-life of a ready-to-eat hamburger steak. **Radiation Physics and Chemistry**, vol. 72, p. 49–56, 2005.

LEISTNER, L. Food preservation by combined methods. **Food Research International**, v.25, n.2, p.151-158, 1992.

LEITÃO, M. F. F. Microbiologia do pescado e controle sanitário no processamento. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, n.50, p.1-35, 1977.

LINDBERG, A. M. *Enterobacteriaceae* found in high numbers in fish, minced meat and pasteurised milk or cream and the presence of toxin encoding genes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 39, p. 11–17, 1998.

MACHADO, M. G. S. **Composição em nutrientes e caracterização das proteínas do filé de pacu (*Colossoma mitrei*, Berg 1985)**. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP, Campinas, 1989.

MADSEN, H.L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends of Food Science and Technology**, v.6, n.8, p.271-277, 1995.

MAQSOOD, S.; BENJAKUL, S. Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. **Food Chemistry**, vol.119, p. 123–132, 2010.

MARENGONI, N. G. et al. Caracterização microbiológica, sensorial e centesimal de *fishburgers* de carne de tilápia mecanicamente separada. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.1, p.168-176, 2009.

MARTINS, F. O. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de preparações (*sushi* e *sashimi*) a base de pescado cru servidos em bufês na cidade de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública), USP, São Paulo, 2006.

MARTINS, M.I.E.G.; ROSA, M.J.S.; VIDOTTI, R.M.; GONÇALVES, G.S. Avaliação econômica do aproveitamento integral dos resíduos da filetagem de tilápia. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 46^a. 2009, Maringá. **Anais dos Resumos**. Maringá, UEM, 2009. v.único, p 1-3.

MEXIS, S.F.; CHOULIARA, E.; KONTOMINAS, M.G. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 °C. **Food Microbiology**, vol. 26 , p. 598–605, 2009.

MORAES, M.; MARTINS, J.F.P. Considerações sobre o aproveitamento de sobras da industrialização de pescado na elaboração de produtos alimentícios. **Boletim de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, n.3, p.253-281, 1981.

MORAES, S. M. et al . Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 19, n. 1b, 2009.

MOREIRA, R. T. **Desenvolvimento de embutido emulsionado de tilápia (*Oreochromis niloticus*) estabilizado com hidrocolóides**. Tese - (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2005.

MOURA, M. A. M.; et al. Caracterização Físico-Química e de Frescor de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) Oriundas da Pesca Extrativista no Médio Rio Tietê/SP, Brasil. **Boletim do Instituto da Pesca, São Paulo**, v. 35, p. 487 - 495, 2009.

NASSU, R.T.; GONÇALVES, L.A.G.; SILVA, M.A.A.P., BEZERRA, F.J. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. **Meat Science**, v. 63, n.1, p. 43-49, 2003.

NEIVA, C. R. P. **Obtenção e caracterização de minced fish de sardinha e sua estabilidade durante a estocagem sob congelamento**. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Ciências Farmacêuticas- USP São Paulo, 2003.

NIETO, G. et al. Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): Influence on lamb meat quality. **Meat Science**, vol.84, p. 23–29, 2010.

NISSEN, L.R. et al. Protection of dehydrated chicken meat by natural antioxidants as evaluated by electron spin resonance spectrometry. **Journal Agricultural Food Chemicals**, v.48, p.5548-5556, 2000.

NTZIMANI, A.G.; GIATRAKOU, V.I.; SAVY Aidis, I.N. Combined natural antimicrobial treatments (EDTA, lysozyme, rosemary and oregano oil) on semi cooked coated chicken meat stored in vacuum packages at 4 °C: Microbiological and sensory evaluation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 187–196, 2010.

OETTERER, M. **Agroindústrias beneficiadoras de pescado cultivado: unidades modulares e polivalentes para implantação, com enfoque nos pontos críticos higiênicos e nutricionais**. Tese (Livre –Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

OETTERER, M. **Industrialização do pescado cultivado**. Guaíba: Editora Agropecuária, 2002, 200p.

OGAWA, M.; MAIA, E.L. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, 1999, v.1, 430p.

OLIVEIRA, E.R.N. **Deterioração do frescor**. Apostila da disciplina de Qualidade do pescado. Toledo, 2004.

OLIVEIRA FILHO, P. R. C. **Elaboração de embutido cozido tipo salsicha com carne mecanicamente separada de resíduos de filetagem de tilápias do Nilo**. Tese (Doutorado em Aqüicultura), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Centro de Aqüicultura/UNESP - Jaboticabal. 2009.

OLIVEIRA FILHO, P. R. C. et al. Quality of sausage elaborated using minced Nile Tilapia submitted to cold storage. **Scientia Agricola**, v.67, n.2, p.183-190, 2010.

OZOGUL, Y. et al. The capability of rosemary extract in preventing oxidation of fish lipid. **International Journal of Food Science and Technology**, vol. 45, p.1717–1723, 2010.

PANTAZI, D. et al. Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: Microbiological, biochemical and sensory attributes. **Food Microbiology**, vol. 25 ,136–143, 2008.

PEREIRA, A. J. **Desenvolvimento de tecnologia para produção e utilização da polpa de carne de carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) na elaboração de produtos reestruturados: fishburger e nugget**. 2003. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

PEREIRA, A. J. et al. Características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais da polpa de carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) e dos produtos reestruturados. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.14, n.2, p. 211-217, 2003.

PIEDEDE, K.R. **Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de filés de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) processados**. Dissertação (Mestre em Ciências), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Piracicaba, 2007.

POKORNÝ, J. Natural antioxidants for food use. **Trends in Food Science and Technology**, v. 2, n. 9, p. 223-227, 1991.

RANKEN, M. D. **Manual de industrias de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1993.672 p.

REHDER, V.L.G. et al. Composição química e atividade antimicrobiana de óleo essencial de *Origanum applii* e *Origanum vulgare*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 6, n. 2, p. 67-71, 2004.

RODRIGUES, T. P. et al. Avaliação da qualidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada, eviscerada e estocada em gelo. **Revista brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 15, n. 2, p. 67-71, 2008.

ROSENGARTEN JR, F. The book of spices. Livingston Publishing Company. 1969. 489 p.

ROTTA, E. M. et al. Estudo da Atividade Antioxidante das ervas alecrim, coentro, orégano e sálvia. In: Encontro de Química da Região Sul, XVI. Blumenau. **Anais**. 2008. Blumenau. 1p.

SAHIN, F. et al. Biological activities of the essential oils and methanol extratct of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey **Food Control**. v. 15, p. 549-557, 2004.

SÁNCHEZ-ESCALANTE, A. et al. Combined Effect of Modified Atmosphere Packaging and Addition of Lycopene Rich Tomato Pulp, Oregano and Ascorbic Acid and their Mixtures on the Stability of Beef Patties. **Food Science and Technology International**; v. 9, n.2, p. 77-84, 2003.

SANTA ROSA, M. J. **Aproveitamento integral dos resíduos da filetagem de tilápia e avaliação do impacto econômico**. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Centro de Aqüicultura/UNESP – Jaboticabal, 2009.

SANT´ANA, L.S.; MANCINI-FILHO, J. Ação antioxidante de extratos de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em filés de peixe da espécie pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 2, n.1, p. 27-31, 1999.

SARY, C. et al. Influência da Lavagem da Carne Mecanicamente Separada de Tilápia sobre a Composição e Aceitação de seus Produtos. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 7, n. 4, p. 423-432, 2009.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. Análises químicas em plantas. Piracicaba. ESALQ/USP, 1979. 40 p. (Mimeogr).

SCHILDMAN, P. A. R. L. et al. Induction of oxidative DNA damage and early lesions in rat gastro-intestinal epithelium in relation to prostaglandin H synthase-mediated metabolism of butylated hydroxyanisole. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, p. 99-109, 1995.

SCHIRCH, D.T.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante com extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*, L.) In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, XVII. Fortaleza. **Resumos**. Fortaleza: SBCTA, 2000, v. 2, p. 5.

SELGAS, M.D.; GARCÍA, M.L.; CALVO, M. M. Effects of irradiation and storage on the physico-chemical and sensory properties of hamburgers enriched with lycopene. **International Journal of Food Science and Technology** ,vol. 44, p.1983–1989, 2009.

SIKORSKI, Z. E. Composición nutritive de los principales grupos de organismos alimenticios marinos. **Tecnología de los productos del mar: recursos**. Zaragoza: Acribia, 1990. p. 41-72.

SOCOL, M.C.H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. (Dissertação – Mestrado em Ciências), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Piracicaba, 2002.

SOCOL, M.C.H., OETTERER, M. Use of Modified Atmosphere in Seafood Preservation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, n. 4, p. 569-580, 2003.

SOUZA, H.B.A.; et al. Avaliação de diferentes teores de gordura e antioxidante natural nos parâmetros qualitativos e sensoriais de embutido fresco de carne ovina. **ARS Veterinária**, v. 21, p. 315-319, 2005.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. 2nd ed. London: Academic Press. 1993. 337 p.

SULTANBAWA, Y. et al. An Innovative Microplate Assay to Facilitate the Detection of Antimicrobial Activity in Plant Extracts. **Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology**, v. 17 p. 519–534, 2009.

TAINTER, D. R., GRENIS, A. T. Especies y aromatizantes alimentarios. Editorial Acribia. 1996. 251p.

TANG, S. et al. A comparative study of tea catechins and α -tocopherol as antioxidants in cooked beef and chicken meat. **European Food Research and Technology**, v. 213, p. 286–289, 2001.

TANG, S. et al. Anti-oxidant activity of added tea catechins on lipid oxidation of raw minced red meat, poultry and fish muscle. **International Journal of Food Science and Technology** ,vol. 36, p. 685 – 692, 2001.

TODD, E. C. D. Microbiological safety standards and public health goals to reduce foodborne disease. **Meat Science**, v. 66, p. 33–43, 2004.

TOKUR, B. et al. Changes in the quality of fishburger produced from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) during frozen storage (-18 °C). **European Food Research and Technology**, v. 218, p.420–423, 2004.

TOKUR, B. et al. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18°C). **Food Chemistry**, v. 99, p. 335-341, 2006.

TORRES, D.E.G.; MANCINI FILHO, J ; TORRES, R.P. Perfil de ácidos graxos e avaliação da atividade antioxidante da semente do fruto do macambo (*Theobroma Bicolor*). In: **Semana de Ciência e Tecnologia da FCF-USP**, V. 2000, São Paulo. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 2000. v. 36. p. 40

TRINDADE, R. A. **Influência de antioxidantes naturais sobre o perfil lipídico de hambúrgueres bovinos submetidos à irradiação por ⁶⁰C e aceleradores de elétron**. Dissertação (Mestrado em Ciências), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2007.

VARELTZIS, K. et al. Effectiveness of a natural Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. **Z Lebensm Unters Forsch A**, v. 20, p. 93–96, 1997.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Feete-Scifen Anstrichmittel**, v. 72, n. 12, p.1084 -1087, 1970.

WONG, J.W.; HASHIMOTO, K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidants activities of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 10, p. 2707-2712, 1995.

YERLIKAYA, P.; GOKOGLU, N. Inhibition effects of green tea and grape seed extracts on lipid oxidation in bonito fillets during frozen storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v.45, p. 252–257, 2010.

YERLIKAYA, P.; GOKOGLU, N.; TOPUZ, O.K. Use of Natural Plant Extracts in Batter Coating of Shrimp and Their Effects on the Quality of Shrimp During Frozen Storage. **Journal of Food Processing and Preservation** , v. 34, p. 127–138, 2010.

YI, W.; WETZSTEIN, H. Y. Biochemical, biological and histological evaluation of some culinary and medicinal herbs grown under greenhouse and field conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.90, p.1063–1070, 2010.

Capítulo 2

USO DO ORÉGANO E ALECRIM COMO ANTIOXIDANTES NATURAIS EM HAMBURGUER DE CARNE MECANICAMENTE SEPARADA DE TILÁPIA.

RESUMO: A deterioração oxidativa é um dos mais importantes processos de degradação de alimentos cárneos, gerando compostos que alteram o sabor e odor, podendo torná-los impróprios para o consumo humano. Como forma de prevenir ou retardar a oxidação são adicionados ao alimento substâncias antioxidantes e os condimentos vegetais têm sido utilizados como alternativa aos antioxidantes sintéticos. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência do orégano e do alecrim como antioxidantes naturais em hambúrgueres de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo armazenados congelados durante 4 meses. Foram elaboradas formulações contendo 0,10; 0,15 e 0,20% de orégano ou alecrim e um produto sem antioxidante. Periodicamente foram determinados BNVT, TBARS para avaliação da oxidação lipídica e pH. O orégano preveniu mais eficientemente a oxidação dos lipídeos durante 120 dias de armazenamento a -18°C, avaliado pelos menores valores de TBARS, e a estabilidade oxidativa durante o período foi observada para o produto elaborado com 0,20% de orégano. Houve interferência nos valores de pH, com menores medidas com o uso do orégano e BNVT não foram alteradas com os condimentos. Os resultados mostraram a possibilidade de se elaborar hambúrguer com CMS de tilápia como uma alternativa para o consumo de alimentos a base de pescado, e o uso do orégano como antioxidante é promissor para prevenir a oxidação.

Palavras-chave: oxidação lipídica, resíduos de filetagem, pescado, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*

ABSTRACT: Oxidative deterioration is an important process of degradation for meat products, generating compounds that alter the taste and odor, and can make these products unfit for human consumption. In order to prevent or retard oxidation process, antioxidant substances can be added, and vegetal condiments have been used as an alternative to replace synthetic antioxidants. The aim of this study is to evaluate the efficiency of oregano and rosemary as natural antioxidants used in tilapia fishburger made with CMS (minced fish) and stored frozen for 120 days. It was elaborated formulations of fishburgers containing 0.10%, 0.15% and 0.20% of oregano or rosemary and a product without antioxidant. BNVT, TBARS and pH were determined periodically. Oregano was more effective in preventing lipid oxidation during 120 days under freezing (-18 °C), evaluated by TBARS values, and oxidative stability was observed for the formulation with 0.20% of oregano. The antioxidants interfered in pH values, oregano formulations showed the lowest values, and did not cause changes in BNVT. The results showed that it is feasible to elaborate tilapia fishburger with “minced fish” as an alternative for the fishery’s consumption, and oregano is promising for avoiding oxidation.

Key words: lipid oxidation, filleting wasting, fish, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*

1 INTRODUÇÃO

Os resíduos gerados com o processamento da tilápia têm como possibilidade de aproveitamento a extração da carne mecanicamente separada (CMS), e é uma alternativa para diversificar a oferta de produtos (KUHN E SOARES, 2002).

A CMS de tilápia pode ser obtida a partir de peixes eviscerados e descabeçados e de resíduos de filetagem, como as aparas dorsais, ventrais e o corte em "v" realizado para a retirada de espinhos remanescentes do filé, o que aumenta o rendimento em carne de 9,5 a 20% (OETTERER, 2002). A avaliação de produtos elaborados com CMS de várias espécies de peixes tem indicado a sua viabilidade. Assim, Tokur et al. (2006) demonstraram que “fish fingers” produzidos com CMS de carpa espelho (*Cyprinus carpio* L. 1758) manteve bons índices indicativos de sua qualidade química e sensorial, durante um período de 8 meses de armazenamento a -18 °C. Hambúrgueres de pescado jundiá (*Rhamdia quelen*) elaborados com 50% de resíduos de filetagem apresentaram alto valor nutricional e aceitação sensorial semelhante à formulação elaborada, exclusivamente, com filés do pescado verificando, assim, a viabilidade do produto obtido com CMS e estocado a -20 °C (BOCHI et al, 2008). Martins et al. (2009) propuseram para uma empresa de médio porte, a produção de hambúrguer com CMS, além da silagem ácida e curtimento do couro, como tecnologias viáveis e econômicas para o aproveitamento dos resíduos gerados pelo processamento da tilápia. Oliveira Filho et al. (2010) elaboraram salsichas com 60% de CMS de resíduos provenientes da filetagem da tilápia, com boa qualidade sensorial, com possibilidade de estocagem a 0 °C por 40 dias.

O processo de obtenção da CMS acarreta o rompimento muscular e aumenta a exposição da carne ao ar e aos microrganismos, o que a torna mais propensa ao processo de oxidação, e consequentemente ao desenvolvimento da rancidez (MITSUMOTO et al, 2005). O emprego de antioxidantes é uma alternativa para aumentar a vida útil dos alimentos, no entanto, entre as desvantagens dos antioxidantes sintéticos, estão a facilidade de perda durante o processamento e o limite de utilização restrito a um máximo de 200 ppm, devido a possibilidade de provocarem

danos ao organismo (SCHIRCH e MANCINI-FILHO, 2000). Para Yerlikaya e Gokoglu (2009) extratos de plantas podem substituir os antioxidantes sintéticos em indústrias alimentícias, visto que a população aceita mais facilmente produtos naturais. Outros estudos também têm demonstrado a atividade antioxidante do alecrim (OZOGUL et al, 2010, SCHIRCH e MANCINI-FILHO, 2000, RACANICCI et al., 2004) e do orégano(RACANICCI et al., 2004)

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antioxidante do alecrim e do orégano em hambúrgueres de CMS de tilápia armazenados sob congelamento por 120 dias.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os resíduos (carcaça) da filetagem de tilápia do Nilo foram compostos de espinhaça da coluna vertebral, sem cabeça, sem pele e sem vísceras e foram coletados em empresa de processamento de filés congelados no interior de São Paulo. Após lavagem e retirada do excesso de gordura, a CMS foi obtida em desossadora mecânica industrial. Foi também utilizado o corte em "v", o qual foi triturado em um moedor homogeneizador industrial. A CMS (90%) e o corte em "v" (10%) foram misturados e homogeneizados.

As formulações dos hambúrgueres foram compostas por 92% de CMS de tilápia e foram utilizados alecrim e orégano comerciais desidratados e moídos como antioxidantes naturais, nas concentrações de 0,0%; 0,10%, 0,15% e 0,20%. Os demais ingredientes foram: sal (1%), proteína de soja texturizada (4%), fécula de mandioca (2%), alho (0,3 a 0,5% dependendo da porcentagem dos antioxidantes) e cebola (0,5%) desidratados.

A CMS foi pesada e misturada com os demais ingredientes em moedor homogeneizador industrial e a massa pronta foi formatada manualmente com o auxílio de um moldador de hambúrguer em porções de aproximadamente 90g, resultando em 95 unidades para cada uma das formulações. Os hambúrgueres foram embalados individualmente e congelados em câmara de congelamento rápido a -25°C e mantidos em freezer a -18°C por 4 meses. Todas as amostras foram descongeladas a 5°C, por um período de 24 horas antes de sua utilização, e as análises foram aos 5, 60, 90 e 120 dias de armazenamento a -18°C.

As porcentagens de umidade, proteína, lipídeos e cinzas foram determinadas, em triplicata, nas amostras de 5 hambúrgueres previamente homogenizadas em processador de alimentos com 5 dias de armazenamento, conforme as normas da Association of Official Analytical Chemist (AOAC, 1995). A análise de oxidação lipídica foi determinada no início e após 60, 90 e 120 dias de estocagem a -18°C pelo método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em triplicata de 3

hambúrgueres, pré-homogeneizados em um processador de alimentos, pelo método descrito por Vyncke (1970) e os resultados expressos em mg malonaldeído/Kg amostra. As bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) foram determinadas no tempo inicial e aos 60, 90 e 120 dias de armazenamento de acordo com Howgate (1976) e os resultados foram expressos em mg N/100g

Para avaliação dos resultados de TBARS, BNVT e pH foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas considerando-se os efeitos principais (concentrações de antioxidantes) e secundários (períodos de armazenamento), bem como a interação entre os efeitos principais *versus* período. As análises estatísticas foram executadas pelo software AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agronômicos (BARBOSA E MALDONADO, 2010).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal dos hambúrgueres de CMS de tilápia consistiu de 73,61% de umidade, 12,40% de proteína, 7,17 de lipídeos e 1,84% de cinzas. Os conteúdos de nutrientes dos hambúrgueres se assemelharam aos dos elaborados com CMS de tilápia por Marengoni et al. (2009), aos de Sary (2009) ao utilizar CMS lavada, aos de Bochi et al. (2008) formulados com 80% de CMS de jundiá (*Rhamdia quelen*) (7,24% de lipídeos) e aos desenvolvidos por Badolato et al. (2006) com polpa de pescado (lipídeos 7,24%).

Os valores médios obtidos para TBARS, BNVT e pH dos hambúrgueres durante o armazenamento estão apresentados na Tabela 1, demonstrando que os diferentes antioxidantes influenciaram o índice de oxidação lipídica e os valores de pH durante o período de armazenamento por 120 dias a -18 °C. Não foi observada interação significativa entre estes dois fatores para BNVT.

Tabela 1. Análise de variância (teste F) para TBARS (mg MDA.kg⁻¹), BNVT (mg.100g⁻¹) e pH de hambúrgueres de CMS de tilápia elaborados com antioxidantes naturais em concentrações variadas, durante o armazenamento por 120 dias.

Fatores	Valores F		
	TBARS	BNVT	pH
Antioxidantes (A)	153,08**	1,85 ^{NS}	108,34**
Período Armaz. (P)	227,16**	3,68*	493,39**
Interação A x P	17,17**	0,20 ^{NS}	9,39**

** p<0,01 * p<0,05 ^{NS} não significativo

Os valores de BNVT foram semelhantes para os hambúrgueres contendo orégano ou alecrim, e apresentaram-se inferiores a 30 mg.100g⁻¹, limite máximo estabelecido pela legislação brasileira para peixe fresco destinado ao consumo humano (Brasil,1997b), indicando que todas as formulações estiverem no padrão para consumo durante os 120 dias. De acordo com Ogawa e Maia (1999), os valores situados entre 5 e 10 mg.100g⁻¹ indicam excelente estado de frescor.

As BNVT são originárias da decomposição de nucleotídeos e da desaminação dos aminoácidos por microrganismos, e compreendem as substâncias amônia, trimetilamina e dimetilamina (OGAWA E MAIA, 1999). Portanto, o procedimento adotado para elaboração e armazenamento dos hambúrgueres foram satisfatórios para inibirem ou retardarem a ação de microrganismos e de enzimas, apesar das variações ($p < 0,05$) nos teores de BNVT de 9,65 (início) a 10,62 $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ (final). Os resultados aproximam-se dos obtidos por Moura et al. (2009) para filés de tilápia do Nilo, e discordaram de alguns autores que observaram a influência positiva da adição do extrato de alecrim nos valores de BNVT em sardinhas (OZOGUL et al., 2010), e em filés e CMS de pescados (VARELTZIS et al., 1997).

O malonaldeído (MDA) é um dos principais produtos formados durante o processo oxidativo e é quantificado pela análise de TBARS. O desdobramento da interação para o índice de oxidação está apresentado na Tabela 2. Os hambúrgueres elaborados com alecrim se oxidaram mais ($p < 0,05$), com índices semelhantes ao sem antioxidante, aos 60 e 90 dias de armazenamento. O orégano foi o antioxidante mais efetivo, proporcionando menores taxas de oxidação lipídica aos 120 dias nas concentrações de 0,15 e 0,20%. A influência do tempo foi observada para as diferentes formulações, com aumento dos valores de TBARS ao longo do período. Os resultados aos 120 dias foram maiores e diferentes significativamente ($p < 0,05$) dos demais dias para a maioria das formulações e, estabilidade oxidativa durante o armazenamento foi observada para o produto elaborado com 0,20% de orégano.

Tabela 2. Desdobramento da interação entre antioxidantes e período de armazenamento para os valores de TBARS dos hambúrgueres elaborados com CMS de tilápia.

Tratamento	TBARS (mgMDA.kg ⁻¹)			
	5 dias	60dias	90dias	120 dias
Sem Antioxidante	0,263 ^{ABd}	0,325 ^{Ac}	0,407 ^{Ab}	0,538 ^{Aa}
Alecrim 0,10%	0,250 ^{BCc}	0,364 ^{Ab}	0,425 ^{Aa}	0,437 ^{Ba}
Alecrim 0,15%	0,303 ^{Ab}	0,333 ^{Ab}	0,414 ^{Aa}	0,426 ^{Ba}
Alecrim 0,20%	0,260 ^{BCc}	0,329 ^{Ab}	0,335 ^{Bb}	0,381 ^{Ca}
Orégano 0,10%	0,220 ^{BCc}	0,269 ^{Bb}	0,262 ^{Cb}	0,346 ^{Ca}
Orégano 0,15%	0,237 ^{BCb}	0,240 ^{Bb}	0,245 ^{Cb}	0,305 ^{Da}
Orégano 0,20%	0,236 ^{BCab}	0,238 ^{Bab}	0,228 ^{Cb}	0,266 ^{Da}

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05\%$).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos presentes nas especiarias é determinada por vários fatores, como a energia de ativação, o potencial de redução e oxidação, a estabilidade do radical intermediário, a estabilidade térmica e a hidrofobicidade (CHEN et al., 1996). Apesar da legislação brasileira não atribuir valores de TBARS para pescado, os índices de oxidação dos hambúrgueres de CMS de tilápia podem ser considerados baixos, e que de acordo com Ke et al. (1984) são classificados como produtos não rançosos e aceitáveis para consumo humano. Os resultados de Ozogul et al. (2010) e Yerlikaya e Gokoglu (2010) reforçam os encontrados neste trabalho, que propõem o uso de produtos vegetais para a inibição da oxidação em produtos da pesca.

Os resultados obtidos para o desdobramento das medidas de pH (Tabela 3) mostraram que embora com variações ($p < 0,001$) entre as médias em cada um dos tempos analisados, todos os valores ficaram compreendidos entre 6,08 e 6,49, estando, portanto, dentro do estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 1997a), que determina que os valores de pH devem ser inferiores a 6,8 para a carne de pescado.

Tabela 3. Desdobramento da interação entre antioxidantes e período de armazenamento para as medidas de pH dos hambúrgueres elaborados com CMS de tilápia.

Tratamento	pH			
	5 dias	60 dias	90 dias	120 dias
Sem Antioxidante	6,25 ^{Bb}	6,35 ^{Ca}	6,22 ^{ABb}	6,33 ^{Ba}
Alecrim 0,10%	6,29 ^{ABc}	6,44 ^{Ba}	6,25 ^{ABd}	6,36 ^{ABb}
Alecrim 0,15%	6,30 ^{Ac}	6,47 ^{Aba}	6,26 ^{Ad}	6,37 ^{ABb}
Alecrim 0,20%	6,29 ^{ABc}	6,49 ^{Aa}	6,26 ^{Aa}	6,40 ^{Ac}
Orégano 0,10%	6,15 ^{Cb}	6,29 ^{Da}	6,16 ^{CDb}	6,27 ^{Ca}
Orégano 0,15%	6,15 ^{Cc}	6,27 ^{Da}	6,20 ^{BCb}	6,27 ^{Ca}
Orégano 0,20%	6,08 ^{Dc}	6,27 ^{Da}	6,13 ^{Db}	6,25 ^{Ca}

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05\%$).

Entre os antioxidantes utilizados na elaboração dos hambúrgueres, o orégano propiciou menores valores de pH em qualquer concentração e tempo analisados, sendo também inferiores aos produtos elaborados sem antioxidante. Os resultados são concordantes com o comportamento do pH em camarões tratados com extratos de plantas estudados por Yerlikaya et al. (2010), que observaram variações nos valores durante o período de estocagem. Oliveira Filho et al. (2010) ao medir pH de salsichas elaboradas com CMS de tilápia observaram queda no valor durante o período de estocagem por 40 dias a 0 °C. Tokur et al. (2004) encontraram medidas de pH entre 7 e 8 para hambúrgueres de tilápia estocados a -18 °C, entretanto, valores de TBARS, BNVT e a análise sensorial, indicam um produto de boa qualidade, apesar do valor de pH.

4 CONCLUSÕES

Os antioxidantes naturais, orégano e alecrim, influenciam o processo oxidativo de hambúrgueres de CMS de tilápia , sendo que orégano é a mais eficiente na prevenção da oxidação durante o congelamento por 120 dias.

A elaboração de hambúrguer com CMS de tilápia do Nilo e com antioxidantes naturais é uma alternativa para o consumo de alimentos a base de pescado e ainda para o aproveitamento dos resíduos da filetagem.

5 REFERÊNCIAS

- 1- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of anlysis. 16 ed. Arlington: AOAC, 1995, v.2.
- 2- BADOLATO, G. G.; ALMEIDA, C.P.M.; LIMA, U.A. Desenvolvimento de uma formulação de hamburguer de peixe dom farinha de banana. **Higiene Alimentar**, v. 20, p. 45-49, 2006.
- 3- BARBOSA, J. C.; MALDONADO JR, W. AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agronômicos, versão 1.0, 2010.
- 4- BOCHI, V.C. et al. Fishburgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting residue. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8844–8849, 2008.
- 5- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA. Aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952 e alterado pelo Decreto nº 2.444 de junho de 1997. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 5 de junho de 1997. a.
- 6- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n.185, de 13 de maio de 1997. Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 19 de maio de 1997.b.
- 7- CHEN, Z. Y. et al. Antioxidant activity of natural flavonoids is governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups. **Chemistry and Physics**, Hong Kong, v. 79, n. 2, p. 157-163, 1996.
- 8- HOWGATE, P. Determination of total volatile bases. Aberdeen: Torry Research Station, 1976 TD 564, Appendix 4.
- 9- KE, P.J.; CERVANTES, E.; ROBLE-MARTINEZ, C. Determination of thiobarbituric acid reactive substances (tbars) in fish tissue by an improved distillation spectrophotometric method. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 35, p. 1248-1254, 1984.
- 10-KUHN, C.R.; SOARES, G. J. D. Proteases e inibidores no processo de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 8, n. 1, p. 5-11, 2002.
- 11- MARENGONI, N. G. et al. Caracterização microbiológica, sensorial e centesimal de fishburgers de carne de tilápia mecanicamente separada. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.1, p.168-176, 2009

- 12- MARTINS, M.I.E.G.; ROSA, M.J.S.; VIDOTTI, R.M.; GONÇALVES, G.S. Avaliação econômica do aproveitamento integral dos resíduos da filetagem de tilápia. In: **46 reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2009, Maringá. Anais dos Resumos**: Maringá:UEM, 2009. v.único, p 1-3.
- 13- MITSUMOTO, M. et al. Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. **Meat Science**, Barking, v.69, n.4, p. 773-779, apr. 2005.
- 14- MOURA, M. A. M. et al. Caracterização físico-química e do frescor de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) oriundas da pesca extrativista no médio rio Tietê /SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.35, n.3 , p.487-495, 2009.
- 15-OETTERER, M. Industrialização do pescado cultivado. Guaíba: Editora Agropecuária, 2002, 200p.
- 16-OGAWA, M.; MAIA, E.L. Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado. São Paulo: Varela, 1999, v.1, 430p.
- 17-OLIVEIRA FILHO, P. R. C et al. Quality of sausage elaborated using minced Nile Tilapia submitted to cold storage. **Scientia Agricola**, v.67, n,2, p.183-190, 2010.
- 18-OZOGUL, Y. et al. The capability of rosemary extract in preventing oxidation of fish lipid. **International Journal of Food Science and Technology** , vol. 45, p.1717–1723, 2010.
- 19-RACANICCI, A. M. C. et al. Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v. 218, n. 6, p. 521-524, 2004.
- 20-SARY, C. et al. Influência da Lavagem da Carne Mecanicamente Separada de Tilápia sobre a Composição e Aceitação de seus Produtos. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 7, n. 4, p. 423-432, 2009.
- 21-SCHIRCH, D.T.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante com extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*, L.) In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, XVII. Fortaleza. Resumos. Fortaleza: SBCTA, 2000, v.2, p. 5.
- 22-TOKUR, B. et al. Changes in the quality of fishburger produced from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) during frozen storage (-18 °C). **European Food Research and Technology**, v. 218, p.420–423, 2004.

- 23-TOKUR, B. et al. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18°C). **Food Chemistry**, v. 99, p. 335-341, 2006.
- 24-VARELTZIS, K. et al. Effectiveness of a natural Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. **Z Lebensm Unters Forsch A**, v. 20, p. 93–96, 1997
- 25-VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Feete-Scifen Anstrichmittel**, v. 72, n. 12, p.1084 -1087, 1970.
- 26-YERLIKAYA, P.; GOKOGLU, N. Inhibition effects of green tea and grape seed extracts on lipid oxidation in bonito fillets during frozen storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v.45, p. 252–257, 2010.
- 27-YERLIKAYA, P.; GOKOGLU, N.; TOPUZ, O.K. Use of Natural Plant Extracts in Batter Coating of Shrimp and Their Effects on the Quality of Shrimp During Frozen Storage. **Journal of Food Processing and Preservation** , v. 34, p. 127–138, 2010.

APÊNDICE

Tabela 1. Contagem de bactérias aeróbias psicrotróficas (UFC/g de amostra) de hambúrgueres de CMS de tilápia do Nilo elaborados com antioxidantes e armazenadas por período de 120 dias a -18°C.

Amostra	Armazenamento (dias)			
	5	40	80	120
Sem Antioxidante	$1,52 \times 10^3$	$1,50 \times 10^3$	$1,47 \times 10^3$	$1,26 \times 10^3$
Alecrim 0,10	$4,30 \times 10^4$	$3,20 \times 10^4$	$1,70 \times 10^4$	$2,43 \times 10^4$
Alecrim 0,15	$3,30 \times 10^4$	$3,90 \times 10^4$	$1,69 \times 10^4$	$2,90 \times 10^4$
Alecrim 0,20	$4,30 \times 10^4$	$3,10 \times 10^4$	$1,63 \times 10^3$	$1,98 \times 10^3$
Orégano 0,10	$1,21 \times 10^5$	$1,35 \times 10^5$	$3,00 \times 10^4$	$3,40 \times 10^4$
Orégano 0,15	$2,15 \times 10^5$	$1,24 \times 10^5$	$2,80 \times 10^4$	$2,50 \times 10^4$
Orégano 0,20	$5,00 \times 10^4$	$1,09 \times 10^4$	$8,30 \times 10^2$	$8,10 \times 10^2$

UFC = Unidade Formadora de Colônia