

UFRRJ

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS CAROTENÓIDES
DO URUCUM COMO AGENTE ANTIOXIDANTE
APLICADO EM HAMBÚRGUER DE TILÁPIA DO
NILO (*Oreochromis niloticus*)**

VITOR DA CRUZ MELEIRO

2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS CAROTENÓIDES DO URUCUM
COMO AGENTE ANTIOXIDANTE APLICADO EM HAMBÚRGUER
DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

VITOR DA CRUZ MELEIRO

Sob orientação da professora
Maria Ivone Martins Jacintho Barbosa

Co-orientação da professora
Tatiana Saldanha

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos área de concentração Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ
Julho de 2012

660.28443

M519a

T

Meleiro, Vitor da Cruz, 1972-
Avaliação da eficiência dos
carotenóides do urucum como agente
antioxidante aplicado em hambúrguer
de tilápia do Nilo/ Vitor da Cruz
Meleiro. - 2012.

82 f.: il.

Orientador: Maria Ivone Martins
Jacintho Barbosa.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 58-65.

1. Antioxidantes - Teses. 2.
Urucum - Análise - Teses. 3.
Tecnologia de alimentos - Teses. 4.
Tilápia (Peixe) - Processamento -
Teses. I. Barbosa, Maria Ivone
Martins Jacintho. II. Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro.
Curso de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos. III.
Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

VITOR DA CRUZ MELEIRO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração de Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 31/07/2012.

Maria Ivone Martins Jacinto Barbosa Dsc. UFRRJ

(Orientadora)

Simone Pereira Mathias Dsc. UFRRJ

Elisa Helena da Rocha Ferreira Dsc. IFRJ

AGRADECIMENTOS

A DEUS: Por me abençoar com a oportunidade de dar mais um passo importante na minha vida.

A minha esposa: Pelo nosso amor, por sua dedicação, companheirismo e pela paciência, especialmente durante meu período de mestrado.

Ao meu pai pelo exemplo de luta e superação a cada dia.

Ao meu irmão pelo exemplo que sempre foi e será para mim, por nosso amor e nossa amizade.

A minha irmã Ana Luiza, pelo gigantesco amor que sempre dedica a todos nós e minha irmã caçula Gabriela.

Aos afilhados, sobrinhos se sobrinhas que tanto amo e são os melhores presentes que já ganhei.

Ao amigo, dentro e fora de sala de aula, que muito me auxiliou durante a realização de grande parte dos experimentos de mestrado, Ivanilton de Almeida Nery, por sua dedicação e exemplo como mestre e amigo.

Aos colegas que fiz durante a convivência neste período, em especial ao Felipe Reis e Juarez Vicente por todo apoio durante os experimentos que realizamos no LAAB.

Aos colegas do CTS Alimentos e Bebidas que incentivaram ser um profissional melhor, especialmente na pessoa de José Gonçalves, André Dias, Imar Araújo e Antônio Tavares que além do incentivo, buscaram as melhores condições para a conciliação entre o as atividades profissional e a realização do mestrado.

RESUMO

MELEIRO, Vitor da Cruz. **Avaliação Sensorial e da Eficiência do Carotenoide do Urucum como Agente Antioxidante Aplicado em Hambúrguer de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2012.64 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

O processo de oxidação lipídica em alimentos está diretamente relacionado a perdas nutricionais e formação de substâncias indesejadas, precursoras de diversas patologias em humanos. Este trabalho avaliou a atividade antioxidante dos carotenoides obtidos do urucum (bixina e norbixina) em hambúrguer processado à base de tilápia, tendo como base para a avaliação de efeito antioxidante uma amostra controle (sem utilização de antioxidante). Procedeu-se, também, a avaliação de eficiência destes carotenoides como agentes antioxidantes, tendo como base para comparação o eritorbato de sódio. Os carotenoides bem como o eritorbato de sódio foram utilizados em igual concentração no produto (0,05%) a fim de estabelecer um parâmetro de igualdade para a comparação, o experimento realizou-se em dois sistemas-modelos diferentes. Sistema 1: Temperatura de refrigeração 8 ± 2 °C durante 9 dias. As amostras de hambúrgueres foram retiradas do sistema-modelo nos tempos 0, 3 e 9 dias. Ao final de cada período todas as amostras de hambúrgueres foram analisadas cruas. Sistema 2: Temperatura de refrigeração 0 ± 1 °C durante 21 dias. As amostras de hambúrguer foram retiradas do sistema-modelo nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias. Ao final de cada período todas as amostras de hambúrgueres foram analisadas cruas, e assadas em grill doméstico sob temperatura de 150 °C por 16 minutos, os resultados expressos em mg de MDA/Kg de produto. Paralelamente foi estudado o efeito destes carotenóides para qualidade sensorial do hambúrguer de tilápia, tomando os atributos de sabor e aparência para avaliação. Os resultados mostraram que a norbixina e bixina apresentam bons resultados para o controle da oxidação para o produto cru, quando comparados com a amostra controle. Porém, quando esta comparação, entre a amostra controle e as amostras com bixina e norbixina é realizada no produto assado, as amostras contendo bixina e norbixina apresentam diferença significativa, em nível de 5%, na comparação direta entre elas e na comparação com a amostra controle com melhor desempenho por parte da bixina. Na comparação com eritorbato de sódio, para mensurar a eficiência dos carotenoides no controle da oxidação, o desempenho da bixina foi bastante semelhante ao eritorbato de sódio tanto para o produto cru quanto para o produto assado. A mesma comparação entre norbixina e eritorbato de sódio mostra desempenho inferior por parte da norbixina, especialmente para o produto assado. A avaliação sensorial para o atributo cor, mostrou diferença significativa, em nível de 5%, na comparação entre amostras com bixina, norbixina e eritorbato de sódio, com melhor resposta para amostra com bixina. A avaliação do atributo sabor não mostrou diferença significativa entre as três amostras.

Palavras chave: Urucum, tilápia, oxidação, sistema-modelo

ABSTRACT

MELEIRO, Vitor da Cruz. **Sensory Evaluation and Efficiency of the carotenoid antioxidant agent Annatto as Applied to Hamburger Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)**. 2012. 64 p. Dissertation (M.Sc. Food Science and Technology). Institute of Technology, Department of Graduate Studies in Science and Food Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

The process of lipid oxidation in food is directly related to nutritional losses and formation of undesirable substances, precursors of various diseases in humans. This study evaluated the antioxidant activity of carotenoids obtained from annatto (bixin and norbixin) on the basis of raw hamburger tilapia, taking as a basis for evaluation of antioxidant effect of a control sample (without the use of antioxidant). The procedure was also the efficiency rating of antioxidants such as carotenoids, based on comparison to the sodium erythorbate. Carotenoids and the sodium erythorbate concentration were used in the same product (0.05%) to establish a parameter equal to the comparison, the experiment was carried out in two systems, different models. System 1: Cooling temperature 8 ± 2 ° C for 9 days. The hamburger samples were removed from the model system at 0, 3 and 9 days. At the end of each period all samples were analyzed raw hamburger. System 2: Temperature of cooling 0 ± 1 ° C for 21 days. The samples were taken from the burger model system at 0, 7, 14 and 21 days. At the end of each period, all samples were analyzed raw hamburgers and baked in grill household under 150 ° C for 16 minutes, the results were expressed as mg MDA / kg of product. In parallel we studied the effect of these carotenoids to sensory quality of tilapia burger, taking the attributes of flavor and appearance for evaluation. The results showed that the bixin and norbixin present good results for controlling the oxidation to crude product compared with the control sample. However, when this comparison, between the control sample and the samples with bixin and norbixin roast is done on the product, samples containing bixin and norbixin significantly different at the 5% level, in direct comparison between them and the comparison with the sample control with better performance on the part of bixin. In comparison with sodium erythorbate, to measure the efficiency of carotenoids in oxidation control, the performance of bixin was very similar to sodium erythorbate both the crude product and for the baked product. The same comparison between norbixin and sodium erythorbate shows poorer performance on the part of norbixin, especially for the roasted product. Sensory evaluation for the color, showed a significant difference in the level of 5%, when comparing samples with bixin, norbixin and sodium erythorbate, with better response for sample with bixin. This evaluation attribute flavor showed no significant difference between the three samples.

Keywords: Annatto, tilapia, oxidation model system

LISTA DE ABREVIACOES E SMBOLOS

AOCS – American Oil Chemistry Society
BHA – Butil-hidroxi-anisol
BHT – Butil-hidroxitolueno
CMS – Carne Mecanicamente Separada
DP – Desvio Padrão
FAO – Food and Agriculture Organization
g – Grama
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Kcal – Quilocaloria
Kg – Quilograma
MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MDA – Malonaldeído
mg – Miligrama
MPA – Ministério da Pesca e aquicultura
nm – Nanmetro
°C – Graus Clsius
PG – Propilgalato
rpm – Rotações por minuto
SEPA – Secretaria Especial de Pesca e Agricultura
TBA – cido Tiobarbitúrico
TBAR’s – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TBHQ – Terc-butil-hidroquinona
TCA – cido Tricloroacético
TEP – 1,1,3,3 tetaretoxipropano
TMP – 1,1,3,3-tetrametoxipropano
UV – Ultra Violeta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Evolução do consumo per capita de peixe no Brasil	04
Figura 2 – Fase de iniciação da oxidação lipídica	08
Figura 3 – Fase de propagação da oxidação lipídica	08
Figura 4 – Fase de terminação da oxidação lipídica	09
Figura 5 – Estrutura química do colesterol	11
Figura 6 – Processo de formação de óxidos de colesterol	12
Figura 7 – Reação entre ácido 2-Tiobarbitúrico e malonaldeído	14
Figura 8 – Mecanismo de reação para os antioxidantes primários	17
Figura 9 – Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos	19
Figura 10- Estrutura química do eritorbato de sódio	20
Figura 11 – Frutos do urucuzeiro (<i>Bixina orellana</i>)	22
Figura 12 – Estrutura química da bina e norbixina	24
Figura 13 – Fluxograma de processamento do hambúrguer de tilápia	27
Figura 14 – Ficha de avaliação preferência para cor e sabor	31
Figura 15 – Ficha de avaliação da escala hedônica de hambúrguer de tilápia	32
Figura 16 – Resultado do teste de preferência para o atributo aparência	39
Figura 17 – Comparação entre hambúrguer com diferentes antioxidantes	40
Figura 18 – Resultado do teste de preferência para o atributo sabor	41
Figura 19 – Resultado da comparação com escala hedônica para o atributo aparência	43
Figura 20 – Resultado do teste de aceitação com escala hedônica	44
Figura 21 – Evolução da formação de MDA em função do tempo sistema-modelo 1	46
Figura 22 – Evolução da formação de MDA na estocagem para produto cru	48
Figura 23 – Evolução da formação de MDA na estocagem para produto assado	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulação padrão do hambúrguer de tilápia	26
Tabela 2 – Composição centesimal do filé e hambúrguer de tilápia	35
Tabela 3 – Composição centesimal do filé de tilápia criada com dietas diferentes	36
Tabela 4 – Composição centesimal de hambúrguer de tilápia com dietas modificadas	36
Tabela 5 – Comparação entre valor nutricional entre hambúrguer de diferentes espécies	37
Tabela 6 – Teste ANOVA aplicado para atributo aparência	42
Tabela 7 – Comparação entre as médias dos hambúrgueres de tilápia	42
Tabela 8– Evolução da oxidação lipídica no sistema-modelo1	47
Tabela 9 – Evolução da oxidação lipídica no sistema-modelo2 (Hambúrguer cru)	49
Tabela 10– Evolução da oxidação lipídica no sistema-modelo2 (Hambúrguer assado)	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	01
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	04
2.1	A tilápia	04
2.2	Oxidação lipídica em alimentos	06
2.2.1	Perdas nutricionais e efeitos biológicos decorrentes da oxidação lipídica	09
2.2.2	Oxidação do colesterol	10
2.2.3	Óxidos de colesterol em pescado	12
2.3	Avaliação da oxidação lipídica (Índice de TBA)	13
2.4	Antioxidantes em alimentos	16
2.4.1	Antioxidantes sintéticos	17
2.4.2	Antioxidantes naturais	19
2.4.2.1	O Urucum	21
2.4.2.1.1	Bixina e Norbixina	22
2.5	Avaliação sensorial	23
3.	MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1	Material	24
3.1.1	Amostras	24
3.2	Métodos	25
3.2.1	Elaboração do hambúrguer de tilápia	25
3.2.2	Análise de composição centesimal	26
3.2.2.1	Determinação de umidade	26
3.2.2.2	determinação de cinzas totais	27
3.2.2.3	Determinação de proteína	27
3.2.2.4	Determinação de gordura	28
3.2.2.5	Determinação de carboidratos	29
3.3	Testes Sensoriais	29

3.3.1 Testes de Ordenação	29
3.3.2 Teste de aceitação	30
3.3.3 Cálculo do índice de aceitabilidade	31
3.4 Avaliação da estabilidade dos hambúrgueres em sistemas-modelo	32
3.5 Determinação do índice de TBA pelo método de extração a frio	33
3.6 Análise dos resultados	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
4.1 Análise de composição centesimal e rotulagem nutricional	33
4.2 Análises sensoriais	36
4.2.1 Avaliação do atributo aparência	36
4.2.2 Avaliação do atributo sabor	38
4.2.3 Avaliação com escala hedônica para aparência	39
4.2.4 Avaliação com escala hedônica para aceitação	41
4.3 Aceitabilidade	42
4.4 Avaliação para estabilidade dos hambúrgueres em sistema-modelo	43
4.4.1 Avaliação do sistema-modelo 1	43
4.4.2 Avaliação do sistema-modelo 2	46
4.4.2.1 Hambúrgueres Crus	46
4.4.2.2 Hambúrgueres Assados	49
4.5 Sugestões de melhoria para o experimento	54
5.0 CONCLUSÃO	55
6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

1. INTRODUÇÃO

Percebe-se que, o crescente interesse, por parte do consumidor, em relacionar alimentação à saúde tem influenciado as indústrias na busca pelo desenvolvimento de alimentos que possam oferecer maior qualidade tanto do ponto de vista nutricional quanto para manutenção da saúde. Exemplos neste sentido, que podem ser citados, estão no segmento de lácteos com a crescente oferta de produtos *light*, probióticos e prebióticos (CAMPOS *et al.*, 2008). Seguindo o mesmo propósito, pode-se relacionar, também, o aumento na oferta de cereais e derivados que são associados ao alto teor de fibras, espécies de pescados e produtos derivados que podem ser associados a fontes ricas em ácidos graxos da série ômega ou alimentos que apresentem, naturalmente, em sua composição substâncias bioativas. Outra vertente está relacionada a produtos que buscam reduzir ou eliminar algum ingrediente como os produtos destinados à públicos específicos como hipertensos e diabéticos.

Seguindo este contexto, o pescado e produtos derivados se encaixam nesta tendência em função de ser um alimento com grade aporte protéico e conteúdo lipídico reduzido. Embora o consumo tenha aumentado seguidamente nos últimos anos, o consumo per capita de pescado no Brasil ainda é bastante inferior ao recomendado pela FAO, 13, 1 Kg/ hab./ano (MPA, 2009).

Entre as espécies cultivadas, a tilápia é a mais produzida podendo ser encontrada em todo território nacional, exceto nas regiões da Bacia Amazônica e Paraguai, onde o cultivo não é permitido pela legislação ambiental. Em 2009 a produção de tilápia alcançou um volume bastante expressivo, respondendo por 39 % do pescado proveniente da piscicultura continental (MATTA e CUNHA, 2008).

O cultivo de tilápias encontra-se amplamente distribuído nas regiões norte-nordeste, sudeste e sul do Brasil, por questões ambientais o cultivo desta espécie não é permitido nas regiões norte e centro-oeste. Além de possuírem excelentes características de produção e adaptação às condições brasileiras, possuem boas características sensoriais e nutricionais, tais como: carne saborosa, baixo teores de lipídios e calorias, ausência de espinhos em forma de “Y” (mioceptos) e excelentes índices de conversão alimentar e rendimento de filé, o que as potencializa como peixes para industrialização (AB-Tilápia, 2008).

Embora crescimento deste setor tenha sido bastante expressivo nos últimos anos, ainda não é possível encontrar grandes variedades em produtos derivados do peixe. Hoje, dos diversos produtos que podem ser desenvolvidos à base do pescado, o único realmente

explorado ainda é o filé, diferente do que ocorre com os demais animais de açougue onde encontramos uma grande variedade de produtos processado como: embutidos, defumados, reestruturados, entre outros.

Sabe-se que uma das características sensoriais de maior influência na decisão de compra é a aparência. Assim, para se desenvolver um produto derivado de tilápia que, atenda a expectativas sensoriais em todos os aspectos, é importante a preocupação com desenvolvimento e estabilidade de odor, sabor, textura e principalmente coloração.

De maneira geral, o pescado e produtos derivados apresentam uma coloração bastante pálida e pouco atraente, e muitas vezes os produtos derivados apresentam escurecimento em função do processo de oxidação, que pode ser acelerado, devido a condições do processamento e do armazenamento inadequado. Visando melhorar esta característica, verificou-se a possibilidade da aplicação de um corante natural com a capacidade de tornar o produto final mais atraente para o consumidor e ainda atuar como uma barreira, retardando os efeitos negativos gerados pelo processo de oxidação. Sabendo que os carotenóides são pigmentos naturais que conferem aos alimentos tons que variam do amarelo ao vermelho intenso, além do poder corante alguns carotenóides se destacam por apresentarem boa atividade antioxidante.

Dentre os carotenóides de grande interesse industrial, destacam-se os extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.), um arbusto perene originário da América do Sul, mais especificamente da região Amazônica, também cultivado em outras regiões do mundo de clima tropical como a América Central, a África e a Ásia (MERCADANTE e PFANDER, 1998).

No Brasil, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011), a produção de sementes de urucum, no ano de 2010, foi de 13.308 toneladas, destacando-se as regiões Sudeste e Norte que responderam, separadamente, por aproximadamente 34 % do total produzido com volume acima de 4,5 ton., por região (IBGE, 2011) Os principais estados produtores brasileiros são: São Paulo, Rondônia e Pará. Em 2010, o Estado de São Paulo foi o maior produtor com 2932 ton. de sementes, ou seja, aproximadamente 22 % da produção nacional, seguido de Rondônia com 2342 ton. e do Pará com 2108 ton. (IBGE, 2011).

A justificativa para este estudo esta relacionada a contribuição para o setor de pesca e aquicultura, através do fornecimento de dados referentes à composição centesimal, avaliação sensorial e estabilidade sob condições de estocagem não adequada, porém, largamente

praticadas em mercados e demais estabelecimentos de comercialização de produtos reestruturados, como hambúrguer e empanados, desenvolvido a partir de tilápia e demais animais de açougue. Bem como, a importância dos resultados sobre a eficiência dos carotenóides do urucum, como agentes antioxidantes em alimentos para o segmento agro-industrial, já que este é um produto largamente cultivado no Brasil.

Diante do presente exposto, o objetivo principal deste trabalho foi o desenvolvimento de um produto derivado da tilápia com boas características sensoriais além de manter e/ou melhorar as características nutricionais já encontradas nesta espécie. Para tanto foi desenvolvido um produto reestruturado, do tipo hambúrguer, a partir da carne de tilápia, adicionados de antioxidantes naturais, carotenóides de urucum e avaliar a ação destes pigmentos na redução da oxidação lipídica em diferentes condições de estocagem.

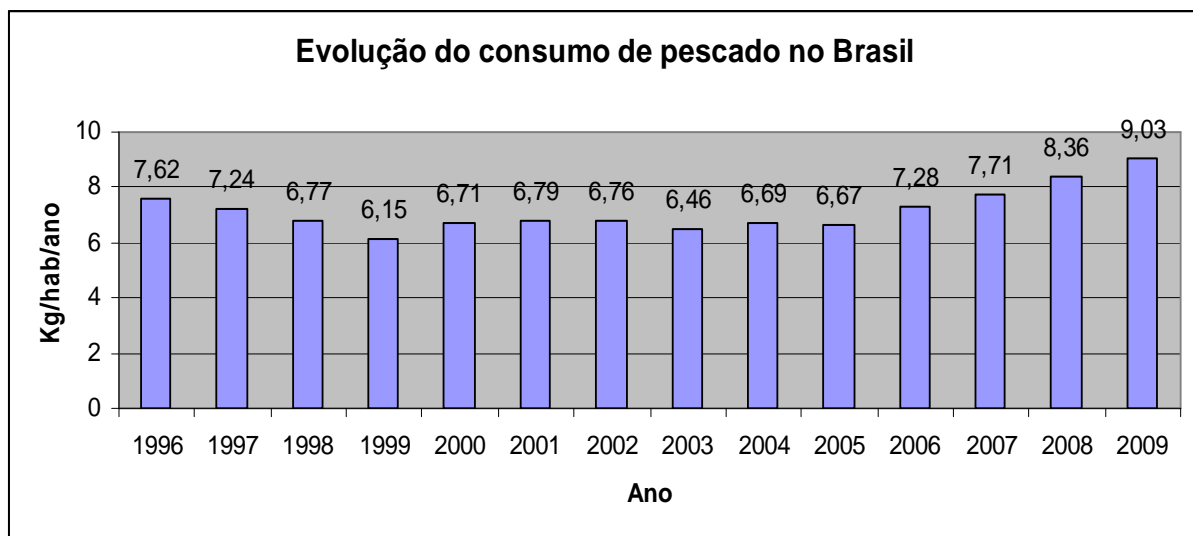
1.1. Objetivos específicos

- ✓ Elaborar uma formulação padrão de hambúrguer de tilápia;
- ✓ Avaliar a composição centesimal do filé de tilápia e da formulação padrão de hambúrguer;
- ✓ Comparar a ação antioxidante dos pigmentos naturais extraídos do urucum (bixina e norbixina) frente ao antioxidante sintético, eritorbato de sódio.
- ✓ Avaliar estabilidade lipídica de hambúrgueres de tilápia crus, adicionado de bixina, norbixina ou de eritorbato em sistema-modelo sob temperatura de refrigeração ($\pm 8^{\circ}\text{C}$) durante 9 dias;
- ✓ Avaliar estabilidade lipídica de hambúrgueres de tilápia crus e assados, adicionado de bixina, norbixina ou de eritorbato em sistema-modelo sob 0°C por 21 dias;
- ✓ Avaliar a aceitação sensorial e os atributos sensoriais das formulações de hambúrguer adicionados de carotenóides de urucum.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A Tilápia

Dados levantados pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), através do Boletim Estatístico de Pesca e Aquicultura, mostram um constante aumento no consumo de pescado no Brasil no período entre 1996 e 2009 (BRASIL, 2009).



Figural-Evolução do consumo per capita de peixe no Brasil

Fonte: M.P.A

Percebe-se, no período de 2003 a 2009, um aumento na ordem de 6 % no consumo Per capita de pescado. Tal fato coincide com uma política de incentivo para o desenvolvimento do setor de pesca e aquicultura, com a criação da Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (SEPA), pelo então Presidente da república Luiz Inácio Lula da Silva, como uma das ações para o fortalecimento deste setor e o incentivo para o aumento no consumo do pescado no Brasil. Com a transformação da SEPA em ministério em 2009, houve a consolidação das políticas voltadas para estruturação e desenvolvimento deste setor produtivo. Com isso, o setor de aquicultura continental também apresentou um crescimento significativo nos últimos anos, alcançando uma elevação de 34,4% no volume na produção entre os anos de 2007 e 2008 e 19,6% entre 2008 e 2009 (BRASIL, 2009).

As tilápias são espécies oportunistas, que apresentam uma grande capacidade de adaptação aos ambientes lênticos. É classificada taxonomicamente na classe *Osteichthyes*, super ordem *Teleostei*, ordem *Perciformes* e família *Cichlidae* (AB-Tilápia, 2008).

Entre as várias espécies, a tilápia do Nilo é a mais cultivada no Brasil por apresentar o melhor desempenho na conversão de ração em peso, principalmente os machos. Atinge entre 400 g e 600 g no período entre seis e oito meses (MATTA e CUNHA, 2008)

No Rio de Janeiro, a aquicultura comercial desenvolveu-se a partir dos anos 80, acompanhando alguns incentivos esporádicos, mas principalmente impulsionada pela iniciativa privada em busca de novas alternativas de investimento no setor produtivo agropecuário (SCOTT *et al.*, 2002).

O Governo do Estado do Rio de Janeiro criou o programa “Polos de Piscicultura”, com o lançamento do primeiro projeto da Região Sul Fluminense, realizado em parceria com as prefeituras, Ministério da Agricultura, Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro - FIPERJ, Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Rio de Janeiro - EMATER – RIO, iniciativa privada, através da Associação dos Piscicultores do Sul Fluminense (PEIXE-SUL) e a Light (PEREIRA *et al.*, 1999).

Estudos sobre a composição química dos filés de tilápias do Nilo, linhagem tailandesa, mostram teores de 18,48%, 2,96% e 1,41% para proteínas, cinzas e lipídios, respectivamente (SIMÕES *et al.* 2007) podendo, desta forma, ser considerado um alimento de baixo valor calórico e ótima fonte de proteína.

Mesmo sob condições diferentes de habitat, e conseqüentemente de dieta, a tilápia apresenta excelente qualidade nutricional com baixos valores de lipídios (VILA NOVA *et al.* 2005), porém, a dieta pode influenciar na composição dos ácidos graxos, alterando a concentração de alguns ácidos graxos poliinsaturados.

Embora peixes marinhos, naturalmente apresentem maior concentração de ácidos graxos da série ômega, quando comparados a peixes de água doce como a tilápia, estudos recentes mostram que, o perfil de ácidos graxos da tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) apresenta uma grande variedade de ácidos graxos poliinsaturados, entre eles ácidos graxos da série ômega-6 como C18:2 e C20:4 e da série ômega-3 como C18:3, 20:3, C20:5 e 22:6 (RIBEIRO *et al.*, 2011).

Diversos produtos processados podem ser elaborados tendo, como matéria-prima principal, a tilápia e/ou sub-produtos da tilápia, como a C.M.S (Carne Mecanicamente Separada). A importância destes estudos está relacionada com oferta de diferentes produtos derivados (salsicha, lingüiça, hambúrguer, entre outros) favorecendo o aumento do consumo de pescado. Como exemplo pode-se citar o desenvolvimento de salsicha elaborada com C.M.S de tilápia, onde foi estudado o efeito da adição de diferentes concentrações de C.M.S

de tilápia à formulação de salsicha de tilápia, com objetivo de verificar a melhor relação para custo de produção e resposta sensorial (FILHO et. al., 2010), em outro estudo avaliou-se o efeito antioxidante do tocoferol, através de comparação entre o efeito do tocoferol aplicado à dieta da tilápia e o efeito do tocoferol aplicado diretamente no músculo após o abate. Os filés obtidos nos diferentes tratamentos foram utilizados para desenvolvimento dos hambúrgueres para posteriormente efetuar a comparação na eficiência do controle da oxidação lipídica. A aplicação do tocoferol ocorreu na ordem de zero, 100 e 200 mg/Kg e os valores médios para o índice de TBARS foram expressos em mg/Kg. Os resultados deste estudo mostraram que a aplicação do tocoferol na dieta apresentou melhor resposta para o controle da oxidação lipídica nos hambúrgueres produzidos para as duas concentrações testadas. (FOGAÇA et. al., 2007).

Outra linha de pesquisa em pescado descreveu a tecnologia para o processamento artesanal de produtos como hambúrguer e kibe a base de peixe, com objetivo de demonstrar a possibilidade de agregação de valor à pesca e produção artesanal de pescado (LARA et. al., 2008). Os autores Filho et. al. (2010) e Rebouças et. al. (2012), obtiveram um concentrado proteico de peixe a partir da carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia, do Nilo e realizaram caracterização físico-química, microbiológica e sensorial do produto obtido. Os autores observaram que a CMS e o concentrado proteico obtiveram, respectivamente, os seguintes resultados com relação a umidade (77,24% e 4,28%), proteína (17,48% e 85,16%), lipídios (4,46 % e 8,20 %) e cinzas (1,02 % e 2,45 %). Os atributos de aspecto geral e cor obtiveram os seguintes resultados, respectivamente, 46,67 % e 60,0 %, na faixa de aceitação da escala. O aroma obteve grande aceitação, alcançando uma frequência de 70 %.

2.2 O Hambúrguer

O hambúrguer teve origem na Alemanha na cidade de Hamburgo, inicialmente sendo consumido cru. Começou a ser consumido nos Estados Unidos no fim do século 19 em Washington. O consumo do hambúrguer começou a ser largamente difundido, neste país, a partir da segunda década do século 20 de forma a se tornar um ícone. O consumo de hambúrguer no Brasil teve início nos anos 50 após a chegada de uma rede de fast food que iniciou a produção em larga escala (NASCIMENTO et. al., 2005).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade estabelecido pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (M.A.P.A), “entende-se por hambúrguer

o produto cárneo industrializado, obtido de carne moída de animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido ao processo tecnológico adequado. Com padrões sensoriais de textura, sabor, odor e coloração característicos e, padrões físico-químicos que envolvem quantidades máximas e mínimas proteína, carboidrato, umidade e lipídios (BRASIL, 2000).

2.3 Oxidação lipídica em alimentos

Óleos e gorduras compõem um grupo de lipídios de maior interesse em alimentos, representando a principal fração apolar, e por tanto, insolúvel em água. São quimicamente definidos como ésteres de glicerol podendo conter três ácidos graxos de diferentes tamanhos e com diferentes graus de insaturação ao longo da cadeia para os óleos, e ausente de insaturação ao longo da cadeia para as gorduras (FENNEMA, 2010).

O processo de oxidação lipídica poder ocorrer por duas vias principais, a enzimática e autooxidação. Estes processos de degradação lipídica estão entre as principais causas responsáveis por alterações indesejadas em alimentos tanto no aspecto sensorial, através da formação de compostos voláteis como aldeídos, cetonas e ácido graxos de baixo peso molecular que influenciarão negativamente na estabilidade de cor, sabor, odor e textura característicos; quanto para saúde, por conta da formação de radicais livres e perdas nutricionais através da redução de vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais (AGUIRREZABAL et. al., 2000; MADSEN e BERTELSEN, 1995).

De maneira geral, o processo de oxidação lipídica ocorre a partir da interação de formas mais reativas do oxigênio com a gordura presente no alimento. Este processo, está diretamente ligado ao grau de insaturação dos ácidos graxos presentes na composição do lipídio, ou seja, quanto maior o grau de insaturação, maior será a suscetibilidade do lipídio à oxidação. Assim, a velocidade de oxidação lipídica varia de acordo com a composição de ácidos graxos e também são influenciadas por fatores externos como a temperatura de processamento e ação da luz U.V., atividade enzimática e presença de íons metálicos (CHOE e MIN, 2005).

A temperatura de processamento aumenta a velocidade da maioria das reações químicas. Nas reações de oxidação lipídica, temperaturas altas de processo podem induzir a oxidação tanto de ácidos graxos insaturados quanto saturados a partir da formação de radicais livres em decorrência do processo de pirólise (CHOE e MIN, 2007).

A ação da luz U.V. está diretamente ligada ao processo oxidação lipídica seja como agente iniciador para formação do “primeiro peróxido” e/ou pela excitação do oxigênio, promovendo conversão da forma mais estável oxigênio (oxigênio triplete $^3\text{O}_2$), na forma mais reativa do oxigênio (oxigênio singlete $^1\text{O}_2$). Este processo é intermediado por fotossensores como riboflavina e clorofila que transferem o excesso de energia absorvida para oxigênio, possibilitando a formação e reação do oxigênio singlete com o lipídio e a formação do peróxido (CHOE e MIN, 2007).

O peróxido também pode ser formado ainda na fase de extração do óleo, pela ação de lipoxigenases presentes naturalmente no vegetal, quando da quebra da estrutura fisiológica do vegetal que age como proteção natural para ação do oxigênio e luz (CHOE e MIN, 2007).

A presença de íons metálicos e metaloproteínas também contribuem para a aceleração das reações de oxidação, porém, a temperatura de processo e a exposição a forma mais reativa do oxigênio aparecem como principais fatores ligados ao processo de oxidação de lipídios.

No processo de oxidação lipídica haverá a interação de um agente iniciador com oxigênio, para ativação deste, e retirada de um átomo de hidrogênio do carbono metilênico entre a ligação dupla *cis* do ácido graxo insaturado (Figura 2), gerando radicais (SEVANI e HOCHSTEIN, 1985):

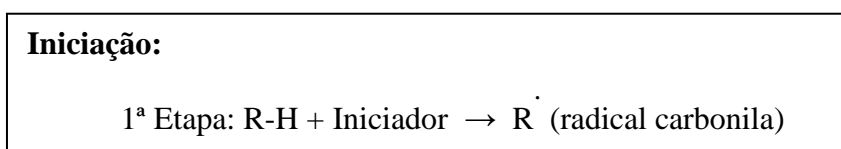


Figura 2- Fase de iniciação da oxidação lipídica

Após a iniciação a reação segue em cadeia (Figura 3) até que se consuma de todo ácido graxo e oxigênio do sistema, em uma sequência de reações que caracterizam a fase de propagação

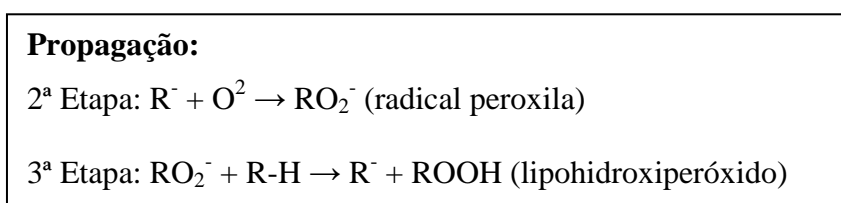


Figura 3- Fase de propagação da oxidação lipídica

As reações de propagação originam diversos peróxidos, que podem ser mensurados com o objetivo de determinar um índice para oxidação em alimentos (Figura 4). Estas reações geralmente envolvem a remoção de um hidrogênio do grupo metileno, pois, a energia de dissociação da ligação C-H é menor pela proximidade da ligação dupla, desta forma a remoção do hidrogênio ocorre preferencialmente nesta região. Estas reações continuam a ocorrer até a fase da terminação (SEVANIAN e HOCHSTEIN, 1985).

Terminação:

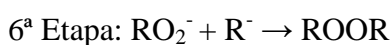


Figura 4 - Fase de terminação da oxidação lipídica

Nesta etapa, ocorre o esgotamento dos substratos e desta forma a reação termina dando origem aos compostos finais, mais estáveis ou menos reativos. Como demonstrado, na 5ª e 6ª etapas radicais alcoxila (RO_2^-), que participam de reações de decomposição, também podem sofrer reações de epoxidação, polimerização ou reagir com outros grupos alquila (R^-) dando origem a produtos finais (KUBOW, 1992). Os principais produtos finais formados na oxidação lipídica são os alcoóis, aldeídos, cetonas, ésteres e outros hidrocarbonetos além de moléculas de elevado peso molecular resultantes de reações de dimerização e polimerização de grupos C-C, ésteres e peroxis unidos a peróxidos (ESTERBAUER, 1993).

2.3.1 Perdas nutricionais e efeitos biológicos decorrentes da oxidação lipídica.

Diversos prejuízos nutricionais ocorrem em função da oxidação lipídica, a indisponibilidade de ácidos graxos essenciais em decorrência da destruição parcial ou total do conteúdo lipídico, redução do conteúdo de vitamina A e C, além da formação de produtos secundários como malonaldeído, capazes de reagir com biomoléculas, como as proteínas, diminuindo a disponibilidade destas para o organismo. A ingestão de peróxidos também pode provocar irritação da mucosa intestinal ocasionando diarreia e dificultando a absorção de nutrientes e; formação de lipídios oxidados que dificultam a absorção de diversos nutrientes

como: riboflavinas, cálcio, tiamina e vitamina B12, proteínas, lisina e aminoácidos sulfurados (KIRK, 1984 e KANNER, 1994).

Em diversos estudos têm sido enfatizadas as características potencialmente tóxicas de compostos carbonila de baixo peso molecular, em especial aldeídos como malonaldeído e acroleína que, entre outros (KUBOW, 1992 e ESTABAUER, 1993). Quando ingeridos estes compostos, especialmente o malonaldeído, mostra capacidade de ligar-se com diversas moléculas provocando modificações de proteínas, lipídios, carboidratos provocando reações que resultam em lesão do material genético, mutações e formação de placas aterosclerótica (KUBOW, 1992 e ESTABAUER, 1993; LINDSAY, 1996).

No Brasil e na América Latina alguns estudos têm associado o aumento na ocorrência de neoplasia maligna do estômago ao consumo de alimentos salgados, mal refrigerados e com baixas concentrações de antioxidante, enquanto as oncopatias do cólon e reto vem sendo associadas ao consumo de alimentos pobres em fibras e vegetais (MARIGO, 1995).

Sabe-se que o aquecimento de carnes e outros alimentos promovem a formação de produtos derivados da reação de Maillard, quando reagindo com produtos da oxidação lipídica, como malonaldeído, originam aminas aromáticas de alto peso molecular e potencialmente cancerígeno (MORALES-AIZPURÚCA e TENUTA-FILHO, 2002).

2.3.2 Oxidação do Colesterol

O colesterol é um composto lipídico insaturado, instável, presente na estrutura de membranas celulares (Figura 5) e, como os óleos e gorduras também é suscetível a oxidação, sendo este processo influenciado por outros fatores além da presença de oxigênio, como ocorre com ácidos graxos. No metabolismo de humanos o colesterol está envolvido nos processo de produção de vitamina D, alguns hormônios e ácido biliar, apresentando, por si só, pequeno ou nenhum efeito citológico e aterogênico (MORALES-AIZPURÚCA, TENUTA-FILHO, 2002).

Por sua vez, muitos óxidos de colesterol correspondentemente formados são substâncias de interesse químico, bioquímico, farmacológico, toxicológico e tecnológico. Assim a importância da oxidação do colesterol em alimentos se dá pelo fato de sua suscetibilidade química e, principalmente, em razão dos óxidos de colesterol formados apresentam propriedades deletérias, com características aterogênicas, citotóxicas, cancerígenas e mutagênicas (KENDALL et. al., 1992; PENG et. al., 1991; PETRAKIS et al.,

1981; SEVANI, PETERSON, 1986; SPORER et. al., 1982). Desta forma, fica claro que a oxidação do colesterol deve ser evitada.

O colesterol (5-colesten-3 β -ol) apresenta uma dupla ligação entre os carbonos 5 e 6 do anel B, que o torna susceptível à oxidação. Os óxidos de colesterol formados são similares ao colesterol, apresenta em comum estrutura básica do núcleo ciclopentano-per-hidrofenantreno, formado por quatro anéis condensados de hidrocarbonetos (A-D), de caráter apolar e insolúvel em água, e uma cadeia lateral ramificada de hidrocarboneto unida ao carbono 17 do núcleo esteróide, também apolar e insolúvel em água. Há um grupo hidroxila no C-3, anel A, em configuração beta, de caráter polar, que confere alguma afinidade meio aquoso e capacidade de esterificação com ácidos graxos, convertendo-se em totalmente insolúvel (MAERKER, 1987; OLIVEIRA, QUINTÃO, 1992; GUARDIOLA et al., 1995; MOREL. LIN, 1996; SMITH, 1996).

Os óxidos de colesterol possuem grupos funcionais álcool, cetona e epoxi, adicionais à molécula do colesterol, sobre o núcleo esteróide e sobre a cadeia lateral conferindo maior polaridade (MAERKER, 1987; MOREL. LIN, 1996; SMITH, 1996). Estas diferenças estruturais conferem, aos óxidos de colesterol propriedades muito importantes, que definem em alguns casos, o tipo e a intensidade do efeito biológico (CRASTES DE PAULET et al., 1988; PENG et al., 1991).

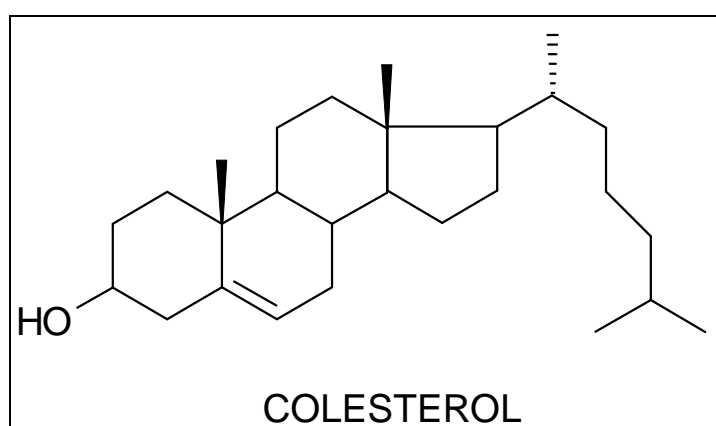


Figura 5- Estrutura química do Colesterol

Os óxidos de colesterol não ocorrem em alimentos frescos, ou ocorrem em quantidades mínimas, o que vale afirmar que estes são gerados nas etapas de processamento e/ou armazenamento, sendo a quantidade e o perfil dos óxidos formados dependentes das características do alimento e das interações entre seus componentes e os produtos de decomposição durante as etapas de processamento e/ou armazenamento (MORALES-

AIZPURÚCA, TENUTA-FILHO, 2002). A presença de óxidos de colesterol em alimentos tem sido observada destacando-se aqueles com maior conteúdo de colesterol, em ordem decrescente, os produtos de ovos (PIE *et al.*, 1990; SARANTINOS *et al.*, 1993 ZUNIN *et al.*, 1995; MORALES-AIZPURÚCA, 2001), cárneos (CSALLANY *et al.*, 1989; PIE *et al.*, 1991) lácteos (SANDER *et al.*, 1989^a; PIE *et al.*, 1990; SARANTINOS *et al.*, 1993) e marinhos (OSADA *et al.*, 1993; MOURA, 1999).

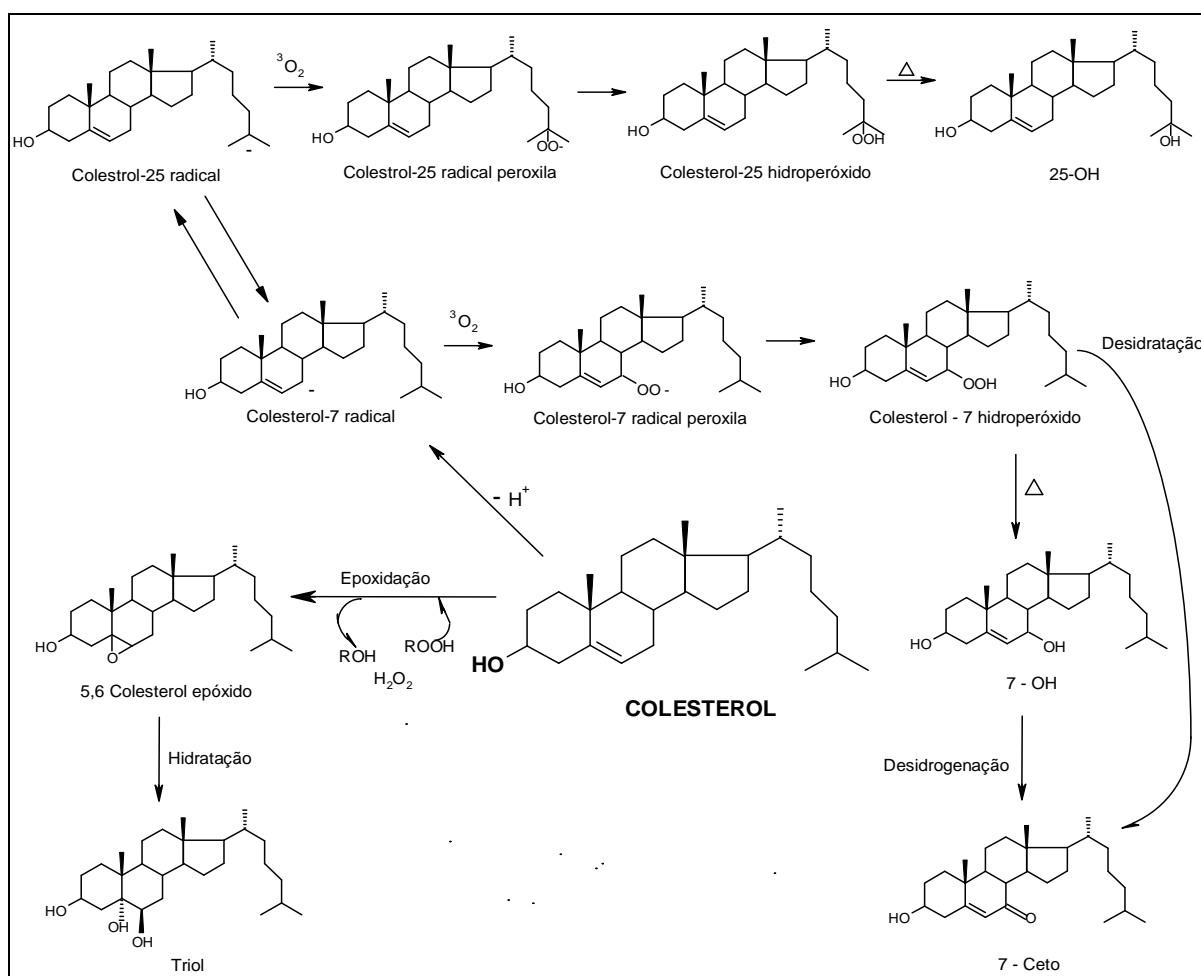


Figura 6- Processos de formação de óxidos de colesterol Fonte: Morales-Aizpurúca, Tenuta-Filho, (2002)

Diversos produtos da oxidação do colesterol foram identificados (Figura 6), os mais freqüentemente encontrados em alimentos são 7-cetocolesterol (3 β -hidroxicolest-5-em-7-ona) ou 7Ceto; 20-hidroxicoolesterol (colest-5-em-3 β , 20-diol) ou 20-OH; 25-hidroxicoolesterol (colest-5-em-3 β , 25-diol) ou 25-OH; 7 α -hidroxicoolesterol (colest-5-em-3 β , 7 α -diol) ou 7 α -OH; 7 β -hidroxicoolesterol (colest-5-em-3 β , 7 β -diol) ou 7 β -OH; colesterol -5,6 α -epóxido (5,6 α -epóxido-5 α -colestrn-3 β -ol) ou 5,6 α -epóxido; colesterol 5,6 β -epóxido (5,6 β -epóxido-5 β -

colestrol-3 β -ol) ou 5,6 β -epóxido; e o colestrolotriol (5 α -colestrol-3 β -5,6 β -triol) ou Triol. O 7-Ceto tem sido encontrado em concentrações mais elevadas e, por isso, apontado como eventual indicador de oxidação do colestrol, porém, o 25-OH e o triol ocorrem em concentrações menos elevadas e todos estes óxidos são citotóxicos e aterogênicos, em graus diferentes (BÖSINGER *et. al*, 1993).

2.3.3 Óxido de colestrol em pescado

Os óxidos de colestrol em pescados são derivados predominantes da oxidação no anel B, sendo o 7 α -OH, 7 β -OH e o 7-Ceto os de maior destaque (CHEN e CHEN, 1994; OSADA *et al.*, 1993; OSHIMA, LI e KOIZUMI, 1993), e em menor proporção o 25-OH e o Triol (OSHIMA *et al.*, 1996). O 7 β -OH foi identificado em maior concentração, 5,44 μ g/g a 42,86 μ g/g, no camarão seco (SAMPAIO, 2004), sendo também relacionado como predominante em peixe seco (CHEN e YEH, 1994) e, em amostras de comerciais de pescado marinho juntamente com o 7 Ceto foram considerados óxidos de maior importância (OSHIMA, LI e KOIZUMI, 1993)

Em atum enlatado, entre os óxidos formados, o 7-Ceto apresentou a maior concentração, 0,3 μ g/g a 3,0 μ g/g, porém, estes valores poderiam ser maiores caso o atum não sofresse uma significativa redução de no teor de lipídeos durante o processamento (ZUNIN, BOGGIA e EVANGELISTI, 2001).

Dentre os óxidos de colestrol, de maior importância, formados em pescado o 25-OH e o Triol são os considerados os mais citotóxicos e aterogênicos (PENG, HU e MORIN, 1991) e frequentemente relacionados à pescados que passaram pelos processos de secagem e/ou cozimento. Estudos recentes realizados em sardinha e pescada, relacionam o cozimento como um dos principais fatores do processo, diretamente ligados na redução significativa das concentrações de ácidos graxos, lipídios totais e colestrol e o aumento simultâneo na concentração de óxidos de colestrol (SALDANHA e BRAGAGNOLO, 2010). Em função dos efeitos adversos dos produtos da oxidação do colestrol, a ocorrência e quantificação destes compostos em alimentos são consideradas de grande importância para saúde pública.

Novos óxidos de colestrol foram detectados em amostras de peixe, em estudo comparativo de detectores de produtos da oxidação do colestrol: 19- Hidroxicolestrol, 22”R”- Hidroxicolestrol, 22 “S”-Hidroxicolestrol, 24 “S”-Hidroxicolestrol e 25 “R”- Hidroxicolestrol (SALDANHA *et al.*, 2006). O 19-Hidroxicolestrol normalmente não é

encontrado em alimentos, por conta disso é utilizado com padrão (amostra branca) na identificação de óxidos de colesterol. A presença deste, como dos demais óxidos descobertos em peixes, deve-se, provavelmente ao metabolismo (SALDANHA et al., 2006)

2.4 Avaliação da oxidação lipídica (Índice de TBA).

O método de análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA) é largamente utilizado para determinação do estado oxidativo de óleos, gorduras e produtos processados que contenham estes componentes, em função de fornecer dados essenciais para predição da rancidez do alimento. Embora forneça resultados empíricos sua aplicação é bastante utilizada em produtos cárneos e pescado em função da fácil reprodução.

O teste de TBA tem por base a quantificação do malonaldeído, um dialdeído de três carbonos com grupos carbonilas nos carbonos C₁ e C₃, um dos principais produtos decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados. Apesar das limitações deste método para avaliação da oxidação lipídica, tem grande aplicação em produtos cárneos e pescado em função da simplicidade e rapidez de resposta.

A reação ocorre entre o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído na proporção molar de 2:1 resultando em um complexo de cor avermelhada com leitura no comprimento de ondas de 532 nm, medido em espectrofotometricamente, podendo variar a leitura entre os comprimentos de ondas 500 nm a 550 nm de acordo com a metodologia de análise aplicada (Figura 7).

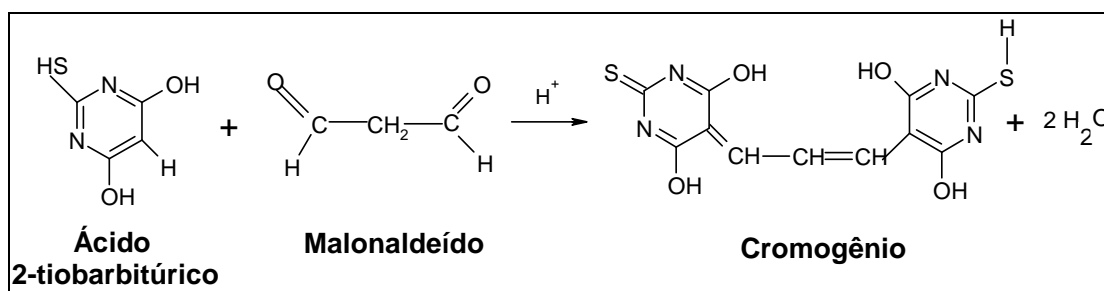


Figura 7- Reação entre ácido 2-tiobarbitúrico e malonaldeído (MDA).

A quantificação do malonaldeído é feita a partir da construção de curvas de calibração com concentrações conhecidas de malonaldeído. Os padrões comumente utilizados são 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) e 1,1,3,3 tetaretoxipropano (TEP). Os resultados obtidos

são expressos em unidades de absorbância por unidade de massa, ou em índice de TBA que é definido com a massa, em mg, de malonaldeído por Kg de produto.

Para optar pelo método TBA é necessário considerar alguns fatores inerentes ao produto e processo, sendo os mais relevantes a composição do produto, já que, este método apresenta maior eficiência quando aplicado a produtos que apresentem ácidos graxos insaturados em sua composição e, no diz respeito ao processo, este método é eficiente para avaliar a oxidação em estágios iniciais de rancidez de banhas, gorduras, óleos de soja e colza, porém, não é bom indicador de oxidação térmica de vários óleos de fritura (OSAWA *et al.*, 2005), apesar de ser reconhecido como metodologia oficial, atualmente pouco se recorre ao TBA para avaliação de oxidação em óleos de fritura (AOCS, 2004).

As metodologias para avaliação de oxidação lipídica baseadas na determinação do índice de TBA, por espectrofotometria, podem ser divididas em quatro grupos (OSAWA *et al.*, 2005):

- a) Diretamente na amostra, através do aquecimento direto com a solução de TBA acidificada para o máximo de desenvolvimento de cor, seguido da extração do complexo com solventes orgânicos.
- b) Determinação a partir do lipídio extraído da amostra. Primeiramente a fração lipídica é extraída da amostra e, em seguida, reage com TBA para formação do complexo colorido e posterior leitura em espectrofotômetro.
- c) A partir do extrato ácido-aquoso: esse método visa a obtenção de extrato aquoso com solução de ácido tricloroacético (TCA) ou ácido perclórico, em que o malonaldeído é um dos componentes, para na sequência reagir com solução de TBA e formação do complexo colorido e posterior leitura em espectrofotômetro.
- d) A partir da destilação da amostra: O alimento é destilado em meio ácido e, em seguida, o reagente TBA acidificado é adicionado ao destilado e aquecido para desenvolvimento máximo de coloração (OSAWA *et al.*, 2005).

Algumas substâncias, por também serem reativas ao ácido tiobarbitúrico, podem causar interferência na resposta ao teste de TBA. Diversos aldeídos, presentes na composição dos ácidos graxos, podem contribuir para o desenvolvimento de cor e influenciar o resultado do teste de TBA. Da mesma forma, a sacarose e/ou a frutose adicionados à formulação ou presentes na composição do alimento podem reagir com acetaldeído e o ácido 2-tiobarbitúrico, através da reação do acetaldeído com produtos não voláteis da pirólise da sacarose gerando um cromogênio a 532 nm na presença do ácido 2-tiobarbitúrico.

O nitrito, presente em produtos cárneos curados, interfere no teste de TBA, especialmente que envolve a etapa de destilação. Nesta etapa, ocorre à nitrosação do malonaldeído, gerada por compostos alifáticos contendo grupos carbonílicos ou outros grupos adjacentes que atraem elétrons, possibilitando a nitrosação do grupo metileno. Esta interferência pode ocorrer mesmo com baixas concentrações de nitrito, na ordem de 10 mg/Kg, já é suficiente para reduzir significativamente o número de TBA e, esta redução aumenta em escala linear em função do aumento da concentração de nitrito (OSAWA *et. al.*, 2005).

Apesar das limitações descritas acima, a utilização desta metodologia de determinação de grau de oxidação é amplamente utilizado em produtos derivados de carnes e pescado e óleos, pois, fornece bom resultado qualitativo, além de ser de fácil reprodução (OSAWA *et. al.*, 2005).

Em experimento que avalia a evolução do processo de oxidação em hambúrgueres de tilápia utilizando índice de TBA, procedeu-se comparação entre o efeito do tocoferol aplicado à dieta da tilápia e o efeito do tocoferol aplicado diretamente no músculo após o abate. Os filés obtidos nos diferentes tratamentos foram utilizados para o desenvolvimento dos hambúrgueres para posteriormente efetuar a comparação na eficiência do controle da oxidação lipídica. A aplicação do tocoferol ocorreu na ordem de zero, 100 e 200 mg/Kg e os valores médios para o índice de TBARS foram expressos em mg/Kg. O índice médio de TBARS obtido para zero de adição de tocoferol foi 3,47 mg/Kg, para 100 mg de tocoferol foi 1,34 mg/Kg e para 200 mg de tocoferol 1,67 mg/Kg, no início do experimento. Por não apresentar uma estrutura que possibilite o controle do processo oxidativo, o índice e TBRAS verificado para o hambúrguer sem adição de tocoferol no início do experimento já é bastante superior as formulações contendo tocoferol (FOGAÇA *et. al.*, 2007)

A metodologia de TBA também foi aplicada para avaliar o processo oxidativo em alimentos, em estudo que verificou a aplicação de diferentes pigmentos naturais durante a estocagem de salsichas, para avaliar a eficiência, destes diferentes pigmentos naturais como agentes antioxidantes, em comparação com o eritorbato de sódio (MERCADANTE *et. al.* 2010),

2.5 Antioxidantes em alimentos

De maneira geral, pode-se chamar de antioxidante toda substância que, quando presente em baixas concentrações, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação deste substrato. Os radicais formados a partir de antioxidantes não são reativos e para propagar reação em cadeia e, sendo neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis ou que podem ser reciclados por outro antioxidante (BARREIROS; DAVID e DAVI ALUKO, 2005).

Na seleção de uma substância para atuação com antioxidante deve-se levar em considerações propriedades como: apresentar eficiência em baixas concentrações; ausência de efeitos indesejáveis para cor, sabor, odor e demais características sensoriais do alimento; estabilidade em condições de processo e armazenamento, compatível com o alimento onde será aplicado e os produtos de oxidação produzidos não devem ser tóxicos (BAILEY, 1996).

Os antioxidantes podem ser classificados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e mistos em função da forma de atuação para evitar o processo de oxidação lipídica (RAMALHO e JORGE, 2006).

Os antioxidantes primários (Figura 8) promovem a remoção ou inativação de radicais livres nas fases de iniciação e propagação, através da doação de átomos de hidrogênio interrompendo a reação em cadeia (SIMIC *et al.*, 1994).

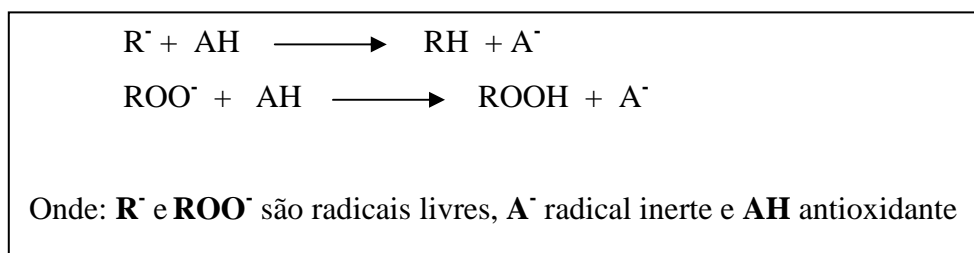


Figura 8- Mecanismo de ação para os antioxidantes primários

Os sinergistas são substâncias de pouca ou nenhuma ação antioxidante, que podem aumentar a eficiência do antioxidante primário, quando utilizados combinados com os primários de maneira adequada (BAILEY, 1996).

Os antioxidantes classificados como removedores de oxigênio, atuam capturando o oxigênio do meio, através de reações químicas formando compostos estáveis, e conseqüentemente deixando este indisponível como propagador da autooxidação (SIMIC *et al.*, 1994 e BAILEY, 1996).

Os antioxidantes biológicos são substâncias naturais presentes em diversos alimentos que podem remover oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema (BAILEY, 1996).

Os agentes quelantes/sequestrantes complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro que agem como catalisadores das reações de oxidação lipídica. Geralmente, substâncias que apresentem um par de elétrons não compartilhado na estrutura serão capazes de complexar estes íons (BAILEY, 1996; KEHRER e SMITH, 1996).

Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas e animais que têm sido largamente estudados como antioxidantes em alimentos. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas, flavonóides e derivados de ácido cinâmico (BAILEY, 1996).

2.5.1 Antioxidantes sintéticos

Entre os antioxidantes sintéticos de maior aplicação em alimentos, podemos destacar o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e o propilgalato (PG) (Figura 9). A estrutura fenólica destes compostos permite a doação de um próton para um radical livre, e assim, interrompendo o mecanismo de reações em cadeia com a molécula de ácido graxo e evitando o processo de oxidação através de radicais livres. Desta forma estes compostos fenólicos formam radicais não reativos, que não irão propagar a reação de oxidação (RAMALHO e JORGE, 2006).

Como a maior parte dos antioxidantes fenólicos, estes apresentam baixa estabilidade a temperaturas elevadas, tem sua eficiência limitada em óleos vegetais ou de sementes, porém, apresentam boa eficiência em óleos de cadeia curta (BAILEY, 1996).

O BHA e BHT apresentam propriedades semelhantes, quando aplicados em alimentos submetidos a temperaturas altas de processo podem conferir sabor e odor. Apresentam efeito sinérgico entre si. O BHA age como sequestrante de peróxidos e paralelamente o BHT age como regenerador de radicais BHA. O BHA também apresenta efeito sinérgico, porém, quando associado ao propilgalato (RAMALHO e JORGE, 2006).

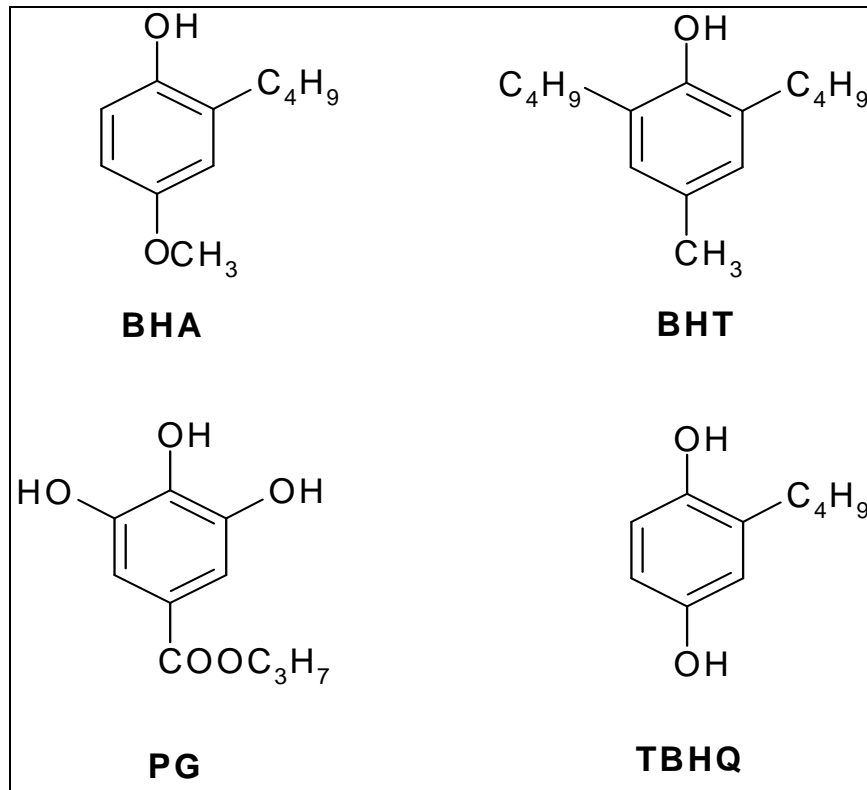


Figura 9- Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos

O PG apresenta boa atividade antioxidante complexando íons ferro e cobre, porém, quando utilizado em altas concentrações pode apresentar efeito pró-oxidante, e apresenta baixa eficiência quando associados a alimentos que apresentem gordura na composição ou ainda alimentos submetidos a tratamento térmico com temperaturas altas, como fritura e cozimento (BAILEY, 1996).

O TBHQ apresenta melhor eficiência em óleos vegetais quando comparado ao BHA e BHT, em relação à gordura animal, mostrar-se tão eficiente quanto o BHA e mais eficiente que o BHT e PG. É considerado também, o antioxidante mais eficiente para óleos de fritura devido a ser estável sob altas temperaturas, proporcionando maior estabilidade aos produtos processados (RAMALHO e JORGE, 2006).

Entre os antioxidantes removedores de oxigênio o ácido ascórbico e o ascorbato de sódio são utilizados em frutas, peixes, derivados de leite, carnes entre outros. O ácido ascórbico com antioxidante atua de diferentes formas: na prevenção da oxidação através da remoção do oxigênio, na regeneração de antioxidantes e de forma sinérgica com complexantes de íons metálicos. Porém, na ausência de agentes complexantes e na presença de cobre pode atuar como pró-oxidante em alguns alimentos (BECKER *et. al.*, 2004).

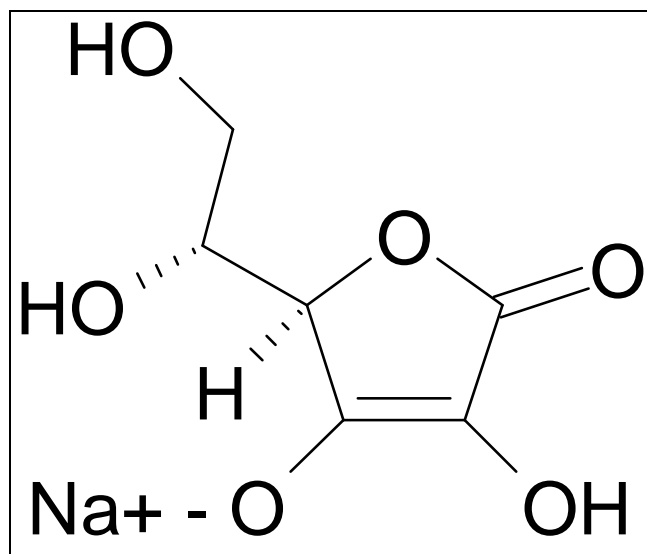


Figura 10- Estrutura química do eritorbato de sódio

O ácido eritórbito e seu sal de sódio, eritorbato de sódio (Figura 10), são fortes agentes redutores e atuam na redução do oxigênio molecular. Estes são isômeros D do ácido e sal de ascorbato, portanto, não apresenta atividade biológica e não ocorre naturalmente em alimentos, em função desta característica, em alimentos onde a atividade antioxidante não é necessária ou desejável pode-se fazer a opção pela utilização do ácido eritórbito e seus sais. Na utilização como antioxidante, o ácido eritórbito age de forma similar ao ácido ascórbico, porém, apresenta menor eficiência especialmente quando envolve-se condições de aquecimento. No entanto, a combinação do ácido eritórbito com ácido cítrico tem sido utilizado em substituição ao sulfito no controle da oxidação e descoloração em peixes, saladas, vegetais e frutas congelados (BECKER *et. al.*, 2004).

2.5.2 Antioxidantes naturais de ocorrência em alimentos

Entre os antioxidantes naturalmente encontrados em alimentos, pode-se destacar as vitaminas, especialmente C e E, compostos fenólicos (flavonóides e ácidos fenólicos) e carotenóides (ex. licopeno e β -caroteno) (FERREIRA *et. al.*, 2010).

As vitaminas C e E apresentam excelentes características, seqüestrando radicais livres com grande eficiência como antioxidante (BIANCHI e ANTUNES, 1999). A vitamina C, ácido ascórbico, caracteriza-se por ser um material branco, cristalino, hidrossolúvel e estável na forma seca (CERQUEIRA; MEDEIROS e AUGUSTO, 2007). Esta vitamina é um

derivado da hexose e classificado com carboidrato, intimamente relacionado aos monossacarídeos. A forma reduzida do ácido ascórbico é a de maior reatividade, sendo assim, a de maior eficiência como antioxidante (DAVEY *et. al.*, 2000).

A vitamina E, pode ser encontrada na natureza em quatro formas diferentes α , β , γ e δ -tocoferol, sendo o α -tocoferol a forma antioxidante de maior ocorrência. Todas as formas do tocoferol apresentam um núcleo cromatol com uma cadeia alifática lateral, apresentando como propriedades: lipossolúvel, razoável resistência ao aquecimento e a ácidos e instabilidade aos álcalis (SOUSA *et. al.*, 2007).

Os compostos fenólicos são substâncias que apresentam um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Podem ser divididos em dois grandes grupos: Flavonóides e Ácidos fenólicos (SILVA *et. al.*, 2010).

Os flavonóides representam um dos grupos de maior estudo como antioxidantes, possuem em sua estrutura dois anéis aromáticos com pontes de três carbonos condensados em um oxigênio, formando um anel intermediário (CERQUEIRA; MEDEIROS e AUGUSTO, 2007). Os flavonóides podem, ainda, ser subdivididos em seis grupos: Flavanóis, flavonóis, flavonas, antocianinas, isoflavonoides e flavononas. Esta subdivisão ocorre em função da substituição e do nível de oxidação do anel C₃ (SILVA *et. al.*, 2010).

Os ácidos fenólicos são caracterizados pela presença de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos hidroxila e/ou metoxila na molécula (DIMITRIOS, 2006). Estes compostos podem ser subdivididos em três grupos: O primeiro grupo constituído pelos ácidos benzóicos, que são os ácidos fenólicos mais simples com sete átomos de carbono (C₆-C₁); o segundo é dos ácidos cinâmicos, com nove átomos de carbono (C₆-C₃) sendo sete destes encontrados em vegetais; o terceiro grupo é composto pela cumarinas que são produtos derivados do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido o-cumárico (SOARES, 2002).

Os carotenóides são corantes naturais com estrutura química composta por ligações duplas conjugadas, conferindo um sistema de ressonância e responsável pela característica lipossolúvel e função antioxidante (PEREIRA *et al.*, 2009). A ação destes compostos com antioxidante é proporcional ao número de ligações duplas conjugadas presentes na molécula (RAO e RAO, 2007). Além da eficiência como antioxidante, existe a contribuição para dieta, por parte do β -caroteno, como precursores de vitamina A. Outros carotenóides como a luteína e o licopeno também apresentam em sua estrutura características de ligações duplas conjugadas,

sistema de ressonância, lipossolubilidade e eficiência como antioxidante, porém, não são precursores de vitamina A (SILVA *et. al.*, 2010).

Estudos mostram a eficiência de diferentes antioxidantes, de ocorrência em alimentos, aplicados em produtos derivados de carne, frango e pescado. A eficiência do α -tocoferol como antioxidante para alimentos pode ser verificada em produtos derivados de tilápia a partir da adição deste composto na dieta do animal bem como na adição diretamente à massa de hambúrguer de tilápia (FOGAÇA e SANT'ANA, 2007).

Outro estudo verificou que a aplicação de sálvia e alho, temperos naturais e de uso doméstico frequente, em carne de frango, tanto para o produto cru com após processamento térmico, apresenta efeito positivo para o retardo no processo de oxidação por parte da sálvia e possibilidade de ação semelhante por parte do alho (MARIUTTI, 2009).

2.5.2.1 O urucum

Trata-se do fruto do uruceiro (*Bixina orellna L.*), um arbusto perene originário América do Sul (Figura 11), mais especificamente da região Amazônica, também cultivado em outras regiões do mundo de clima tropical como a América Central, África e Ásia. É um cultivar que vem conquistando cada vez mais importância mundial, em função da semente deste fruto ser fonte de um corante natural largamente utilizado nas indústrias de cosméticos, farmacêutica e, principalmente, de alimentos, em face da crescente proibição de utilização de corantes sintéticos.



Figura 11- Frutos do uruceiro (*Bixina orellana*)

Em países como Estados Unidos, Japão, e países da Europa Ocidental, é proibido a utilização de corantes sintéticos em alimentos de consumo humano em função destes, apresentarem alguma característica potencialmente alergênica e/ou carcinogênica. No Brasil diversos estudos ainda tratam da proibição no uso de corantes artificiais (MELO e LIMA, 1990).

O urucum é a principal fonte de corante natural aplicada na indústria de alimentos, respondendo por cerca de 90 % de todo corante natural consumido no Brasil, e cerca de 70% dos corantes naturais utilizados em alimentos no mundo (CONTO *et. al.*, 1991). A concentração presente do carotenóide (bixina), pigmento característico do urucum, na semente do urucum irá variar, principalmente, em função da região onde é cultivada, com manejo durante e após a colheita e estocagem. Em média, no Brasil, as sementes de urucum apresentam 2,5 % de bixina (CONTO *et. al.*, 1991).

2.5.2.1.1 Bixina e norbixina

A bixina (9'-cis-6,6'-diapocaroteno-6,6'-dioato, $C_{25}H_{30}O_4$) é o principal pigmento natural da semente do urucum (*Bixina orellana L.*), representando cerca de 80% dos carotenóides presentes na semente do urucum (Figura 12), lipossolúvel de aplicação direta em alimentos gordurosos como manteiga, cremes vegetais e alguns tipos de queijo (PRESTON e RICKARD, 1980; MERCADANTE e PFADER, 1998; RIOS, 2005). Pequenas quantidades de norbixina (9'-cis-6,6'-diapocaroteno-ácido6,6'-dióico, $C_{25}H_{30}O_4$) também são encontradas nas sementes, podendo, também, ser produzida pela saponificação da bixina (BARETH *et. al.*, 2002; KOUL *et. al.*, 2003; RIOS e MERCADANTE, 2004B; TOCCHINI e MERCADANTE, 2001).

Em meio alcalino a bixina pode sofrer saponificação e produzir um ácido dicarboxílico livre, denominado norbixina. Em excesso de álcali o ácido dissocia-se formando um sal de característica hidrossolúvel (PIMENTEL e STRINGHETA, 1999). Através deste processo, ocorre uma alteração na estrutura do pigmento, alterando a solubilidade e tornando possível a utilização deste pigmento em diferentes matrizes. A bixina e norbixina apresentam capacidade de interceptar e desativar moléculas reativas do oxigênio, desempenhando a ação de antioxidante natural bastante eficiente, prevenindo aterosclerose através da inibição da oxidação da lipoproteína LDL (MERCADANTE *et. al.*, 2010).

Em estudos comparativos a norbixina apresentou maior eficiência na função antioxidante que outros carotenóides, comprovadamente eficientes, como luteína e licopeno, além da própria bixina. Estima-se que a norbixina apresente melhor eficiência no controle da oxidação lipídica em função de sua estrutura de maior polaridade, possibilitando a quelação de íons metálicos e outras estruturas polares (SOUZA, 2011).

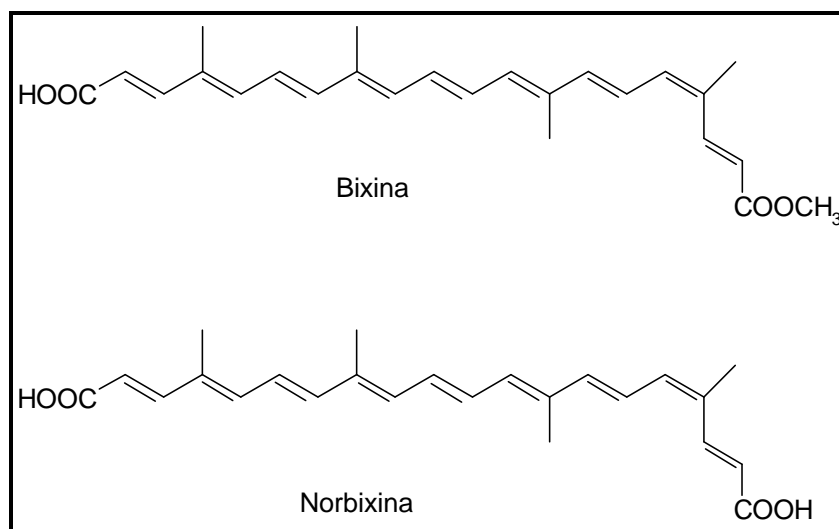


Figura 12- Estrutura química da bixina e norbixina

Estudos sobre a aplicação de colorífico em carne de frango congelada mostra a eficiência dos carotenoides do urucum no controle do processo de oxidação da carne cru e cozida (CASTRO *et. al.*, 2011).

Em estudo para a avaliação quanto as propriedades antioxidantes, utilizando os radicais 2,2'-difeníl-b-picrilhidrazil (DPPH·) e ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS·+) de extratos etanólicos de 23 ervas e condimentos desidratados comercializados no Brasil, foi verificado que o colorífico, um dos condimentos mais utilizados no Brasil, cuja bixina é o principal carotenóide, apresentou atividade antioxidante maior que extrato de cebola (MARIUTTI, 2009).

Em outro experimento, baseado na comparação entre o e eritorbato de sódio e diferentes pigmentos naturais (licopeno, β -caroteno, zeaxantina e norbixiana), aplicados em salsicha para avaliação do efeito antioxidante e estabilidade da cor estocada sob refrigeração, verificou-se que a zeaxantina e a norbixina apresentaram melhores resultados para o retardo no processo oxidativo e de estabilidade de cor, entre os pigmentos estudados (MERCADANTE, 2010).

2.5 Avaliação sensorial

Durante o processo de desenvolvimento de novos produtos e/ou reformulação de um produto, as indústrias de alimentos buscam atender os anseios dos consumidores no que se refere a características sensoriais (textura, sabor, odor e coloração), afim melhorar a aceitação do produto e tornando-se mais competitivas no mercado. Para tanto, a análise sensorial tem sido uma importante ferramenta utilizada na melhoria e desenvolvimento de produtos, envolvendo um conjunto de técnicas elaboradas com objetivo de avaliar o produto desde as etapas produtivas até o consumidor final. Fazendo-se assim uma ciência que tem por objetivo estudar as percepções do consumidor quanto às características do produto incluindo a resposta de aceitação ou rejeição (MININ, 2006).

Os testes de aceitação são aplicados com objetivo de verificar a resposta dos consumidores se gostaram ou não gostaram de determinado produto, podendo utilizar escalas balanceadas ou não balanceadas, sendo que as escalas balanceadas são mais aplicadas por serem mais discriminativas e questionadoras por apresentarem igual número de categorias positivas e negativas e termos igualmente espaçados (MININ, 2006).

Dentre as escalas utilizadas para medir aceitação a escala hedônica é mais utilizada em função de ser largamente testada e fácil entendimento por parte dos provadores e também de quem aplica. Nesta escala o provador expressa sua aceitação seguindo uma escala previamente estabelecida que varia, gradativamente com base nos atributos “goste” e “desgostei”. Esta escala pode ainda ser apresentada como escala verbal estruturada; escala facial e escala não estruturada (MININ, 2006).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material

Os experimentos foram realizados com hambúrguer de tilápia desenvolvido na planta piloto de alimentos e analisado no laboratório de análises físico-químicas do CTS Alimentos e Bebidas SENAI-RJ, localizado a Av. Nilo Peçanha, 85, Centro, Vassouras –RJ.

3.1.1 Amostras

Os filés de tilápias da linhagem tailandesa, foram adquiridos junto a Cooperativa de Aquicultores do sul fluminense - Peixesul Ltda, localizada no município de Pirai-RJ. As amostras de bixina e norbixina foram obtidas na forma de extrato em pó sob concentrações de 27,32 % e 30,15 % respectivamente, por meio de doação, da Baculerê Corantes Naturais localizada no município de Olímpia-SP. As amostras de proteína isolada de soja foram obtidas junto a empresa Solae localizada no município de Barueri-SP. O glutamato monossódio foi obtido por doação da empresa Topmart Logística e Distribuição Ltda, localizada na cidade de Barra Mansa-RJ. O condimento pronto para hambúrguer de pescada foi obtido por doação, junto à empresa Kienast & Kratschmer Ltda (Kraki), localizada em Santo André-SP. O antioxidante eritorbato de sódio foi obtido por doação junto a empresa Duas Rodas Industrial, localizada no município de Jaraguá do Sul-SC. O óleo de soja e o sal refinado foram adquiridos no mercado local na cidade de Vassouras-RJ.

3.2 Métodos

3.2.1 Elaboração do hambúrguer de tilápia

Todos os ingredientes utilizados na formulação padrão do produto foram pesados nas proporções descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Formulação padrão do hambúrguer de tilápia

Ingrediente	Quantidade (%)
Filé de tilápia	81,65
Óleo	5,00
Sal refinado	1,50
Proteína de soja	1,00
Água	10,00
Condimento pronto	0,50
Glutamato monossódico	0,30
Antioxidante natural ou sintético ¹	0,05

¹Natural (bixina e norbixina) ou sintético (eritorbato de sódio)

As concentrações de 0,05% para antioxidantes eritorbato, bixina e norbixina foram definidas de acordo com MERCADANTE *et. al.* (2010).

Para elaboração dos hambúrgueres de tilápia utilizou-se o Fluxograma (Figura 13), onde inicialmente o filé de tilápia foi moído em disco de 3 mm com auxílio de moedor elétrico (marca incomaf) até a obtenção de uma massa homogênea.

Após a pesagem, todos os ingredientes foram adicionados à massa, obtida no processo de moagem, e homogeneizados com auxílio de misturador elétrico da marca Incomaf durante 5 minutos.

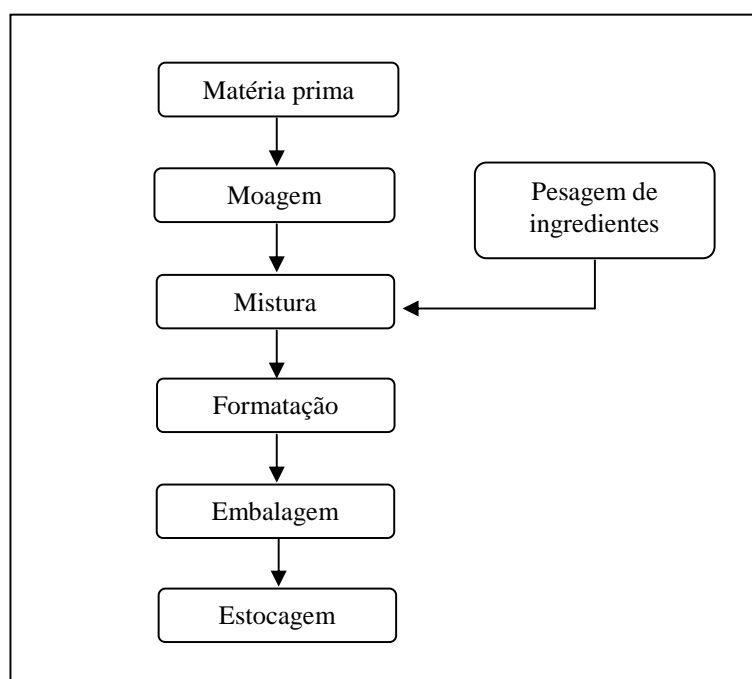


Figura 13- Fluxograma de processamento do hambúrguer de tilápia

Em seguida a massa foi formatada com auxílio de equipamento do tipo embutidor, (marca incomaf), com módulo de adaptação para formatação de hambúrguer. As unidades de hambúrguer apresentaram peso médio de 55 g e foram embalados em filme de polietileno de baixa densidade com espessura de 0,5 mm, e em seguida armazenados sob temperatura de refrigeração, conforme descrito nos sistemas-modelos 1 e 2.

3.2.2 Análise de composição centesimal

Foram determinadas a composição centesimal do filé e dos hambúrgueres de tilápia conforme as metodologias descritas a seguir.

3.2.2.1 Determinação de umidade

A determinação de umidade foi realizada segundo o método Adolfo Lutz (2008).: Pesou-se 5 g da amostra em cápsula de porcelana ou metálica, previamente tarada. A amostra foi levada para aquecimento em estufa a 105 °C por três horas. Resfriou-se a amostra em dessecador até temperatura ambiente. Repetiu-se a operação de pesagem até peso constante.

$$\text{Cálculo: } \frac{100 \times N}{P} = \% \text{ de umidade da amostra} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde: N = Massa da amostra seca

P = Massa da amostra

3.2.2.2 Determinação de cinzas totais

A determinação de cinzas totais foi realizada segundo método Adolfo Lutz (2008). Pesou-se 5 g da amostra em cápsula de porcelana previamente aquecida em mufla a 550 °C e resfriada em dessecador até temperatura ambiente e pesada. Secou-se em chapa elétrica, carbonizando a amostra a baixa temperatura, para em seguida proceder incineração em mufla a 550 °C, até eliminação completa do carvão. As cinzas apresentaram-se brancas ou ligeiramente acinzentadas. Repetiu-se a operação de pesagem até peso constante

$$\text{Cálculo: } \frac{100 \times N}{P} = \% \text{ de cinzas m/m} \quad \text{Equação (2)}$$

Onde: N = n° de gramas de cinzas

P = n° de massa da amostra

3.2.2.3 Determinação de proteína pelo método macro de Kjeldahl

A determinação do teor de nitrogênio total foi realizada segundo metodologia do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (M.A.P.A)(BRASIL, 1999). Este método é baseado na determinação de nitrogênio através da transformação deste em sulfato de amônio e posterior titulação com ácido para quantificação do nitrogênio.

Etapa de digestão – Pesou-se 1 g da amostra em balança analítica, na sequência, transferiu-se a amostra para o tubo de Kjeldahl. Adicionou-se 5 g de mistura catalítica e 20 ml de ácido sulfúrico p.a, e pérolas de vidro, aqueceu-se o conjunto em bloco digestor lentamente no início e posteriormente aqueceu-se fortemente até a liberação de fumaça branca. Após o líquido tornar-se límpido e transparente com tonalidade azul-esverdeado, foi retirado do aquecimento e, após o resfriamento, adicionou-se 300 ml de água.

Etapa de destilação – Acondicionou-se ao destilador erlenmeyer contendo 20 ml da solução de ácido bórico e 4 ou 5 gotas do indicador misto, adicionou-se 3 ou 4 grânulos de zinco metálico ao tubo digestor e acondicionou-o ao destilador de proteína, dosou-se solução de soda cáustica a 50% até que não ocorresse mais reação de neutralização e solução desenvolvesse caráter alcalino (verificou-se na viragem e com fitas de pH).

Etapa de titulação – Titulou-se a solução obtida com solução de ácido sulfúrico até viragem, e procedeu-se o cálculo, de acordo com a equação 3:

$$\text{Cálculo: } \frac{V \times N \times f \times 0,014 \times 100}{P} = \% \text{ de nitrogênio total} \quad \text{Equação (3)}$$

% de proteína na amostra = % nitrogênio total x F.

Onde: V= volume em ml da solução de ácido gasta na titulação, após correção do branco;

N= normalidade teórica da solução de ácido utilizada

f = Fator de correção da solução de ácido utilizada;

F= Fator de conversão da relação nitrogênio/proteína (6,25);

P= massa da amostra em g.

3.2.2.4 Determinação de lipídeos pelo método Bligh-Dyer modificado.

A determinação do teor de lipídeos foi realizada de segundo método Adolfo Lutz (2008). Pesou-se 50 g da amostra, após homogeneizá-la, e transferiu-se a amostra para um béquer de 500 ml. Adicionou-se 50 ml de clorofórmio e 100 ml de metanol. Adicionou-se, novamente, 50 ml de clorofórmio e 50 ml de água. Agitou-se, com auxílio de uma agitador mecânico por 15 minutos, em capela química. Filtrou-se o material homogeneizado, utilizando-se funil de vidro com papel de filtro contendo sulfato de sódio anidro, para funil de separação de 500 ml. Após completa separação e clarificação, recolheu-se a camada de clorofórmio (inferior) em balão de fundo chato de 300 ml, previamente tarado. Evaporou-se

em rota-vapor até remoção do solvente. Transfiriu-se o balão para estufa a 105°C por 1 hora. Esfriou-se em dessecador e pesou-se a amostra. Repetiu-se a operação de pesagem até peso constante.

$$\text{Cálculo: } \frac{100 \times N}{P} = \% \text{ de lipídeos na amostra} \quad \text{Equação (4)}$$

Onde: N= (massa do balão + massa de óleo) - massa do balão;

P= Massa da amostra em g.

3.2.2.5 Determinação de carboidratos

A determinação de carboidratos foi realizada por diferença e aplicada somente ao hambúrguer.

$$\text{Cálculo: } (U + C + P + L) - 100 = \% \text{ de carboidrato na amostra} \quad \text{Equação (5)}$$

Onde: U = % de umidade;

C = % de carboidrato;

P = % de proteína;

L = % de lipídeo.

3.3 Testes Sensoriais

Os testes sensoriais foram realizados seguindo a metodologia descrita por Chaves (1999), em hambúrgueres crus e assados, conforme descrição nos itens 3.3.1 e 3.3.2, no laboratório de análises sensoriais do CTS Alimentos e Bebidas - SENAI-RJ, localizado a Av. Nilo Peçanha, 85, Centro, Vassouras-RJ.

3.3.1 Testes de Ordenação (Comparação)

Nesta primeira etapa as amostras foram submetidas ao teste de ordenação para comparação visual entre três formulações de hambúrguer (Bixina, norbixina e eritorbato), com hambúrguer cru, conforme no ponto de venda. O mesmo procedimento foi aplicado para avaliação de sabor, também entre as três formulações de hambúrguer (Bixina, norbixina e eritorbato), com hambúrguer assado. Este teste foi desenvolvido com objetivo de verificar se,

a aplicação dos carotenóides do urucum, bixina e norbixina, impactariam na decisão de escolha entre os produtos, para os atributos avaliados.

Para o atributo aparência, foi realizado o teste comparativo utilizando as três formulações de hambúrguer, conforme descrito acima, utilizando 97 provadores sendo, 58 mulheres e 39 homens, sem treinamento, com dois questionamentos. Os provadores foram orientados, a identificar a amostra que atenda melhor as expectativas para este atributo no momento da compra (hambúrguer cru). Para realização deste experimento foi utilizada uma ficha de avaliação, onde amostra com bixina é representada pelo código 905, amostra com eritorbato de sódio é representada pelo código 315 e a amostra com norbixina é representada pelo código 107, conforme Figura14.

Nome:
Sexo:
Idade:
Marque com X a amostra de sua preferência
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
905 315 107

Figura 14- Ficha de avaliação de preferência para cor e sabor

Para avaliação do atributo sabor, foi aplicado o mesmo teste comparativo com produto assado em grill doméstico a 150 °C por 16 minutos e, em seguida submetido à avaliação de sabor sob condições controladas para padronização da coloração, evitando que a aparência interferisse na decisão de escolha. O objetivo para este teste foi determinar se a aplicação do carotenóide exerceria alguma influência no atributo sabor.

Para avaliação deste atributo foi utilizado mesmo universo de provadores na avaliação do atributo aparência e ficha de avaliação semelhante, onde as codificações foram mudadas com objetivo de não permitir a correlação entre as amostras e os testes.

Os resultados obtidos neste teste foram submetidos ao teste da ANOVA para verificação de diferença significativa, em nível de 5 %, entre as amostras, onde, verificou-se esta diferença para o atributo aparência.

3.3.2 Teste de aceitação

Na segunda etapa, as amostras foram avaliadas com base em escala hedônica contendo nove pontos (Figura 15), variando do gostei muitíssimo ao desgostei muitíssimo e adotando scores variando de 9 a 1, respectivamente, possibilitando estabelecer uma classificação com valor numérico médio, para o atributo aparência, com objetivo de identificar dentre as amostras de hambúrguer, qual apresenta maior aceitação.

Nome: _____	
Data: _____	
Sexo: M () F ()	Idade: _____ Anos
Por favor, avalie a amostra servida e indique o quanto você gostou ou desgostou do produto. Marque a resposta que melhor reflete seu julgamento.	
Código da amostra: _____	
9- () Gostei extremamente	
8- () Gostei muito	
7- () Gostei	
6- () Gostei ligeiramente	
5- () Não gostei /nem desgostei	
4- () Desgostei ligeiramente	
3- () Desgostei	
2- () Desgostei muito	
1- () Desgostei extremamente	
Comentários: _____	

Figura 15- Ficha de avaliação de hambúrgueres de tilápia, com base na escala hedônica

Na sequência realizou-se o teste de aceitação apenas com a amostra de hambúrguer que apresentou o melhor resultado no atributo aparência. Para realização destes dois experimentos utilizou-se um único modelo de ficha de avaliação, sendo uma ficha para cada

experimento, conforme figura 14. Nesta etapa do teste foi utilizado um universo de 83 provadores, sendo 48 mulheres e 35 homens, avaliando as características sensoriais para determinar aceitação produto assado em grill doméstico a 150 °C por 16 minutos.

3.3.3 Cálculo do índice de aceitabilidade

Para determinação de um valor numérico médio para o teste de aceitação e posterior determinação, em percentual, de aceitação foram atribuídos valores numéricos, variando de 9 a 1, as respostas da escala hedônica, conforme figura 14, para em seguida proceder o cálculo conforme equação 6:

Equação (6)

Cálculo:

$$\frac{[(9 \times a) + (8 \times a) + (7 \times a) + (6 \times a) + (5 \times a) + (4 \times a) + (3 \times a) + (2 \times a) + (1 \times a)]}{W} = SM$$

$$\frac{(SM \times 100)}{(9 \times W)} = \% \text{ de aceitação do produto avaliado.}$$

Onde: a = N° de provadores associados ao score

W = Universo total de provadores

SM = Score médio obtido pelo produto avaliado

3.4 Avaliação da estabilidade dos hambúrgueres em sistemas-modelo

Cabe ressaltar que, as condições escolhidas para avaliação buscam simular uma realidade encontrada atualmente em mercados e hipermercados onde produtos congelados são comercializados em “ilhas de congelamento”, (freezer aberto) onde estes produtos expostos, especialmente os que se encontram na superfície, apresentam temperatura bem acima do recomendado para produtos congelados (-10° C a -12° C).

A avaliação da estabilidade lipídica das 4 formulações de hambúrguer cru de tilápia: (1) Controle (0% de antioxidante) (2) + 0,05% bixina, (3) + 0,05% de norbixina e (4) + 0,05% eritorbato. A estabilidade de todos os hambúrgueres estudados, foram avaliadas nos seguintes sistema-modelo, que simularam diferentes condições de estocagem e de processamento:

✓ Sistema 1: Temperatura de refrigeração 8 ± 2 °C durante 9 dias. As amostras de hambúrgueres foram retiradas do sistema-modelo nos tempos 0, 3 e 9 dias. Ao final de cada período todas as amostras de hambúrgueres foram analisadas cruas.

✓ Sistema 2: Temperatura de refrigeração 0 ± 1 °C durante 21 dias. As amostras de hambúrguer foram retiradas das do sistema-modelo nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias. Ao final de cada período todas as amostras de hambúrgueres foram analisadas cruas e assadas em grill doméstico sob temperatura de 150 °C por 16 minutos.

Todas as amostras retiradas dos sistemas-modelo forma submetidas a análise para determinação de índice de TBA, conforme descrito no 3.5.

Todos os experimentos dos sistemas-modelo foram realizados em triplicata com uma repetição, totalizado 6 experimentos por tempo por sistema-modelo ou 18 experimentos para o sistema-modelo 1 e 24 experimentos para o sistema-modelo 2.

3.5 Determinação de índice de TBA pelo método de extração a frio

A determinação do índice de TBA foi realizada segundo a metodologia de KANNAT, SHANDER e SHARMA (2005). Pesou-se 2 g de amostra, adicionou-se 16 ml de solução de ácido tricloroacético (TCA 25 %), homogeneizou-se a mistura por 20 segundos a 20.000 rpm e, em seguida filtrou-se em papel de filtro Whatman n° 40. Recolheu-se 2 ml do filtrado em tubo com rosca e acrescentou-se 2 ml de solução de ácido tiobarbitúrico (TBA 20 mM). Fechou-se os tubos e aqueceu-se em banho-maria a 70°C por 30 minutos. Esfriou-se a amostra em água e procedeu-se leitura de absorbância em espectrofotômetro utilizando o comprimento de ondas de 532 nm. A concentração TBA foi calculada utilizando-se a curva padrão preparada com malonaldeído bis (dietil acetal) fornecido pela Merck. foram preparadas 12 soluções padrão com concentrações de 0,1, 0,3, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 e 5,0 ppm para realização de varredura entre os espectros 500, 510, 520, 530, 532, 540, 550 nm, com objetivo de verificar o melhor comprimento de ondas para absorção do MDA, e a partir dos dados obtido na varredura construir curva de calibração para este experimento. Todos os espectros utilizados nesta etapa estão apresentados no ANEXO. Os resultados foram expressos em mg de malonaldeído (MDA)/ Kg de hambúrguer.

3.6 Análise dos resultados

As análises para os dois sistemas-modelo foram feitas em triplicata com uma repetição do experimento e, aplicado o teste de Tukey para verificação de diferença significativa em nível de 5%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Análises de composição centesimal e informação nutricional.

As análises para determinação da composição centesimal foram realizadas em triplicata com uma repetição conforme as metodologias descritas anteriormente, gerando os resultados descritos na Tabela 2, a rotulagem nutricional foi elaborada por cálculo com auxílio de tabela (TCA-USP).

Tabela 2- Composição centesimal do filé e do hambúrguer de tilápia

	Análises (%) ¹				
	Umidade	Proteínas	Lipídios	Carboidratos	Cinzas
Filé	76,55 ± 0,55	21,29 ± 0,49	1,27 ± 0,31	----	0,89 ± 0,10
Hambúrguer	74,45 ± 0,42	17,82 ± 0,42	6,46 ± 0,23	1,27 ± 0,16	4,80 ± 0,05

¹Média ± Desvio Padrão (DP)

Os resultados de análise centesimal do filé da tilápia obtidos neste experimento, mostraram semelhança quando comparados a respostas obtidas em outros experimentos, que também determinaram a composição centesimal deste peixe (Tabela 3). Wing-Keong e Bahurmiz (2009), avaliaram a interferência na composição centesimal, e outros aspectos, a partir da incorporação de diferentes óleos comestíveis na dieta da tilápia obtendo resultados que variaram entre 79,5 e 80,5 % para umidade, 16,9 e 17,9 % para proteína, 1,3 e 1,7 % de lipídios e 1,0 e 1,1 % para cinzas. Em experimento semelhante, Fogaça *et al.* (2007) avaliou o impacto de diferentes concentrações de tocoferol na dieta obtendo resultados entre 75,1 e 78 % para umidade, 20 e 20,7 % para proteína, 0,56 a 0,63 % para lipídios e 2,3 a 2,5 % para cinzas. Estes resultados mostram que diferentes condições de alimentação, habitat e manejo, entre outros fatores, podem interferir nos valores dos atributos de composição centesimal.

Tabela 3 - Composição centesimal do filé de tilápia criada com dietas diferentes

Análises (%)¹				
Tratamentos	Umidade	Proteínas	Lipídios	Cinzas
Óleo de peixe	79,51 ± 0,18	17,90 ± 0,18	1,74 ± 0,02	1,12 ± 0,01
Óleo de palma	80,54 ± 1,03	16,90 ± 1,25	1,71 ± 0,23	1,06 ± 0,06
Gordura de palma	79,95 ± 0,07	17,69 ± 0,08	1,33 ± 0,13	1,12 ± 0,02
Mistura de óleos	79,64 ± 0,09	17,62 ± 0,03	1,70 ± 0,10	1,14 ± 0,01

¹Média ± Desvio Padrão (DP)

Fonte: Wing-Keong e Bahurmiz, (2009)

Os resultados das análises de composição centesimal do hambúrguer de tilápia mostram um alimento com características de ótima fonte de proteína e com baixa concentração de gordura, como normalmente se busca ao consumir pescados e produtos derivados.

Resultados verificados em experimento que avalia interferência de dieta específica na composição centesimal e estabilidade oxidativa em hambúrgueres de tilápia (FOGAÇA, et. al., 2007), mostra semelha para valores médios de proteína e umidade e diferença significativa entre os valores de lipídios e cinzas, conforme Tabela 4.

Estas diferenças entre as formulações sugerem que na formulação desenvolvida no experimento de Fogaça não houve a adição de gordura de nenhuma espécie e assim os valores de lipídios se mantêm muito próximos dos valores encontrados em filés. Quanto a diferença no valor de cinzas e não mensuração do valor de carboidratos podem sugerir que na formulação desenvolvida por Fogaça não houve a incorporação de condimento e aditivos, tendo com único ingrediente adicionado o antioxidante para posterior avaliação.

Tabela 4 - Composição centesimal de hambúrguer de tilápia com dietas diferentes

Tratamento	Umidade (%)	Proteína (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)
Controle	76,12 ± 1,75	20,67 ± 1,27	0,63 ± 0,01	2,33 ± 0,07
100 mg/Kg	77,96 ± 0,60	19,97 ± 0,69	0,56 ± 0,03	2,21 ± 0,08
200 mg/Kg	75,04 ± 1,09	20,13 ± 0,74	0,64 ± 0,02	2,46 ± 0,15

Média ± Desvio Padrão (DP)

Fonte: Fogaça et. al., (2007)

A comparação entre alguns dos atributos da informação nutricional elaborada com o hambúrguer de tilápia desenvolvido neste experimento, e formulações de hambúrgueres de animais de diferentes espécies, amplamente comercializados, evidencia a boa qualidade, do ponto de vista nutricional por parte do hambúrguer de tilápia, conforme Tabela 5.

Tabela 5- Comparação entre valor nutricional de hambúrguer de diferentes espécies

Parâmetros ¹	Hambúrguer				
	Tilápia	*Tilápia b	**Peru	**Frango	**Bovino
Proteína (g)	16,8	16,0	16,3	15	17,5
Gord. Totais (g)	6,4	6,3	10,8	17	21,2
V. Calórico (Kcal)	126	188	173	226	269

¹Resultados expressos por 100 g

Fonte: * Avancini et. al. (2008); **Site: Sadia.com.br

Na comparação direta entre os alguns atributos da informação nutricional é possível verificar de maneira mais clara a diferença entre as formulações comercializadas e a formulação do hambúrguer de tilápia. Ao comparar o valor calórico do hambúrguer de tilápia (126 Kcal/100g) com o valor correspondente para o hambúrguer de peru (173 Kcal/100g) o menos calórico entre os comercializados, percebe-se a redução de 47 Kcal/ 100g que corresponde a 27,17 % menos calorias. Fazendo a mesma comparação entre o hambúrguer de tilápia e o hambúrguer bovino, apresenta redução de 53,16 %.

Para o conteúdo de gorduras totais, a comparação entre o hambúrguer de tilápia e hambúrguer de peru mostra uma redução de 40,74 % de gorduras totais e repetindo esta comparação entre hambúrguer de tilápia e hambúrguer bovino a redução é de 69,88 % para o atributo gorduras totais.

A comparação, para informação nutricional, entre os resultados obtidos neste experimento e os resultados obtidos por Avancini *et. al.*, (2008), também para hambúrguer de tilápia, mostra características muito semelhantes nos atributos que correspondem a proteína e gordura, porém, o valor calórico é 32,99 % maior no hambúrguer de tilápia desenvolvido por Avancini *et. al.*, (2008). Estas comparações evidenciam a qualidade nutricional do produto desenvolvido neste experimento.

Os valores de proteína apresentaram pequena diferença entre o hambúrguer de tilápia e os hambúrgueres de peru, frango e bovino e todos atendem os parâmetros estabelecidos pela Instrução Normativa nº 20 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (M.A.P.A),

onde foi estabelecido, no referido regulamento técnico, os padrões físico-químicos com valores máximos e mínimos para gordura, proteína, carboidrato, cálcio e proteína não cárnica para hambúrguer de carnes de diferentes espécies de animais de açougue em: valor máximo para gordura em 23 %, mínimo para proteína em 15 %, máximo para carboidrato em 3 %, máximo de 4 % para proteína não cárnica na forma agregada, máximo para cálcio em 0,1 % para o produto cru e máximo em 0,45 % para o produto cozido (BRASIL, 2000).

4.2 Análises sensoriais

As análises sensoriais foram realizadas em duas etapas onde, na primeira etapa o objetivo foi avaliar a influência da aplicação dos carotenoides do urucum nos atributos aparência do hambúrguer cru, conforme encontrado no ponto de venda, e sabor do hambúrguer assado. Na segunda etapa a avaliação feita foi para determinar a aceitação, com auxílio de escala hedônica, da formulação de hambúrguer que apresentou melhor resposta nas avaliações anteriores.

4.2.1 Avaliação do atributo aparência

Para avaliação da aparência, os provadores foram instruídos a escolher a amostra que melhor atendesse as expectativas de aparência dos hambúrgueres crus no momento da compra. Neste primeiro experimento, o resultado os provadores demonstraram clara preferência pela formulação contendo a bixina, atingindo o valor de 50,52 % das escolhas, enquanto as formulações contendo norbixina e eritorbato de sódio apresentaram resultados muito próximos, 28,86 % e 20,62 % respectivamente, embora apresentem-se bastante diferentes na aparência (Figura 16).

Os depoimentos obtidos junto aos provadores mostram que, apesar das amostras, norbixina e eritorbato apresentarem padrões de coloração bastante diferentes, a amostra com bixina apresentou tonalidade bastante intensa com associação coloração artificial, já a amostra com eritorbato de sódio apresentou tonalidade pálida sendo associada a ausência de condimentação.

Apesar das respostas dos provadores mostrarem dois produtos totalmente diferentes, conforme descrito, o resultado estatístico mostra não mostra diferença significativa (em nível de 5 %).

Novamente baseado nos os relatos obtidos juntos aos provadores, este resultado pode estar relacionado ao fato da amostra contendo bixina ter apresentado um padrão de coloração de grande aceite acentuando a resposta de rejeição para as amostras contendo norbixina e eritorbato de sódio (Figura 16).

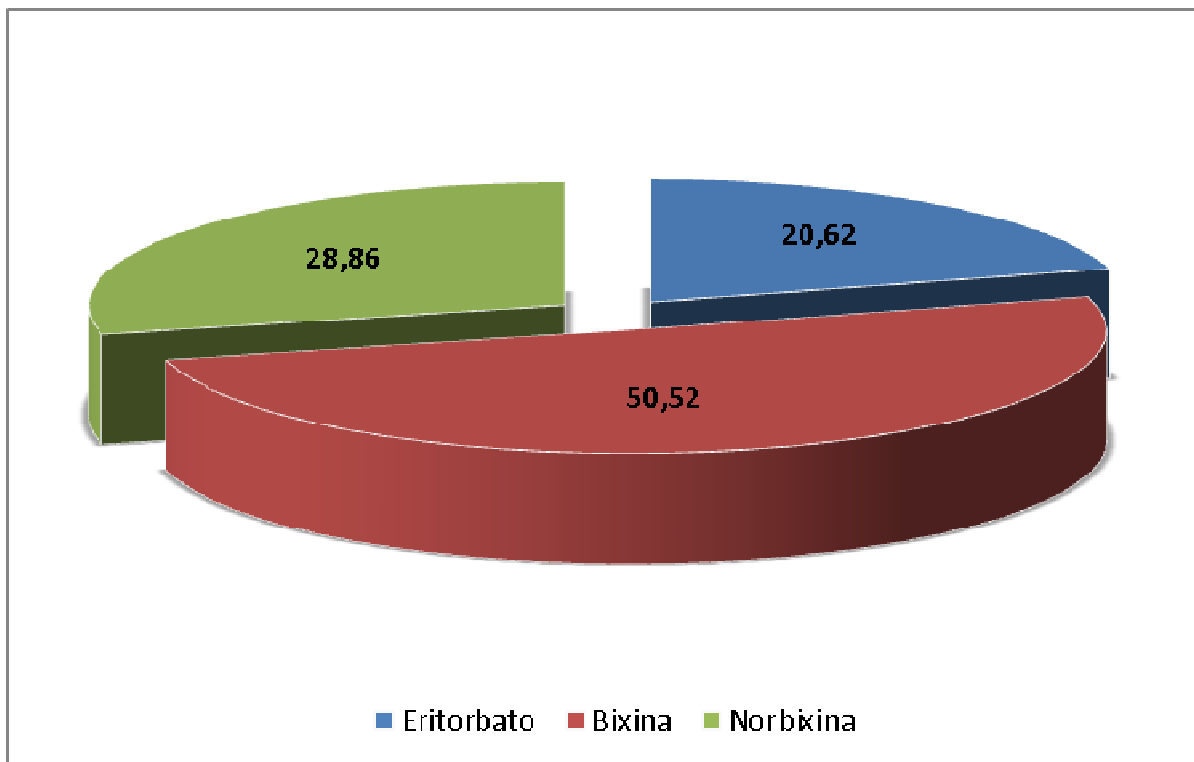


Figura 16- Resultado do teste de preferência para o atributo aparência (%)

Para a amostra contendo eritorbato, percebeu-se que a apresentou rejeição em função da palidez, sugerindo pouca condimentação

Assim, estas amostras ficaram em dois extremos da avaliação, especialmente por haver uma terceira amostra, contendo bixina, que mostrou melhor equilíbrio para este atributo (Figura 16). Este resultado pode ser relacionado a questões que envolvem o hábito alimentar da maioria dos brasileiros que, por consumirem mais produtos derivados de animais de açougue (bovinos, suínos e aves), que apresentam, para o atributo sensorial de aparência, especialmente a coloração, bastante relacionada a presença de condimentos, além da utilização de corantes e outros ingredientes que melhoram a aparência do produto final.

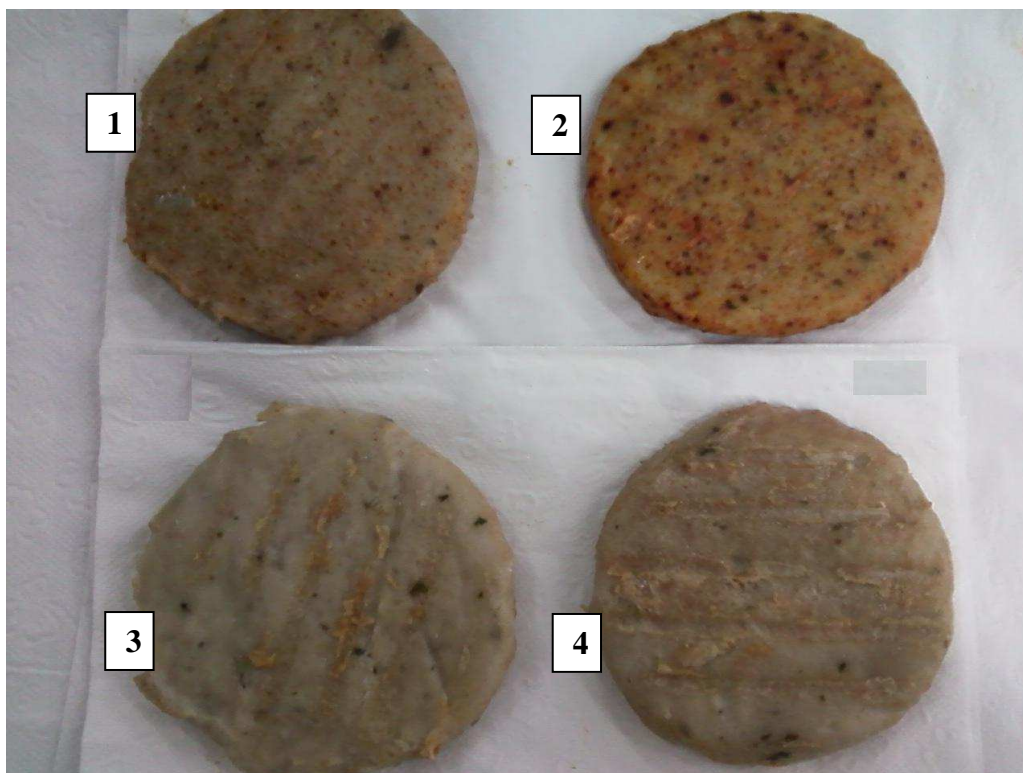


Figura 17- Comparação entre hambúrguer com diferentes antioxidantes, (1)Bixina; (2)Norbixina; (3)Controle; (4)Eritorbato.

Assim, a amostra com eritorbato de sódio apresentou resultado bastante pálido, já que, não apresenta nenhum tipo de corante e a amostra com norbixina apresentou uma coloração demasiadamente laranja quando comparadas com a amostra com bixina (Figura 17).

Nos testes sensoriais a amostra controle, sem antioxidante, não foi utilizada já que apresentaria a mesma aparência da amostra com eritorbato de sódio.

4.2.2 Avaliação do atributo sabor

Este experimento foi realizado de maneira que, os provadores não verificassem a diferença de coloração entre as amostras e teve como objetivo principal foi, identificar se a aplicação dos carotenoides influenciariam de forma, positiva ou negativa, na decisão de escolha dos provadores para o atributo sabor.

Este experimento não apresentou resposta positiva, no tocante a influenciar de maneira positiva ou negativa a preferência por uma das três amostras, ou seja, não houve diferença significativa, em nível de 5 %. Os resultados indicaram que preferência 30,93 % dos

provadores escolheram a amostra com norbixina, 32,99 % escolheram a amostra com bixina e 36,08 % escolheram a amostra com eritorbato de sódio (Figura 17).

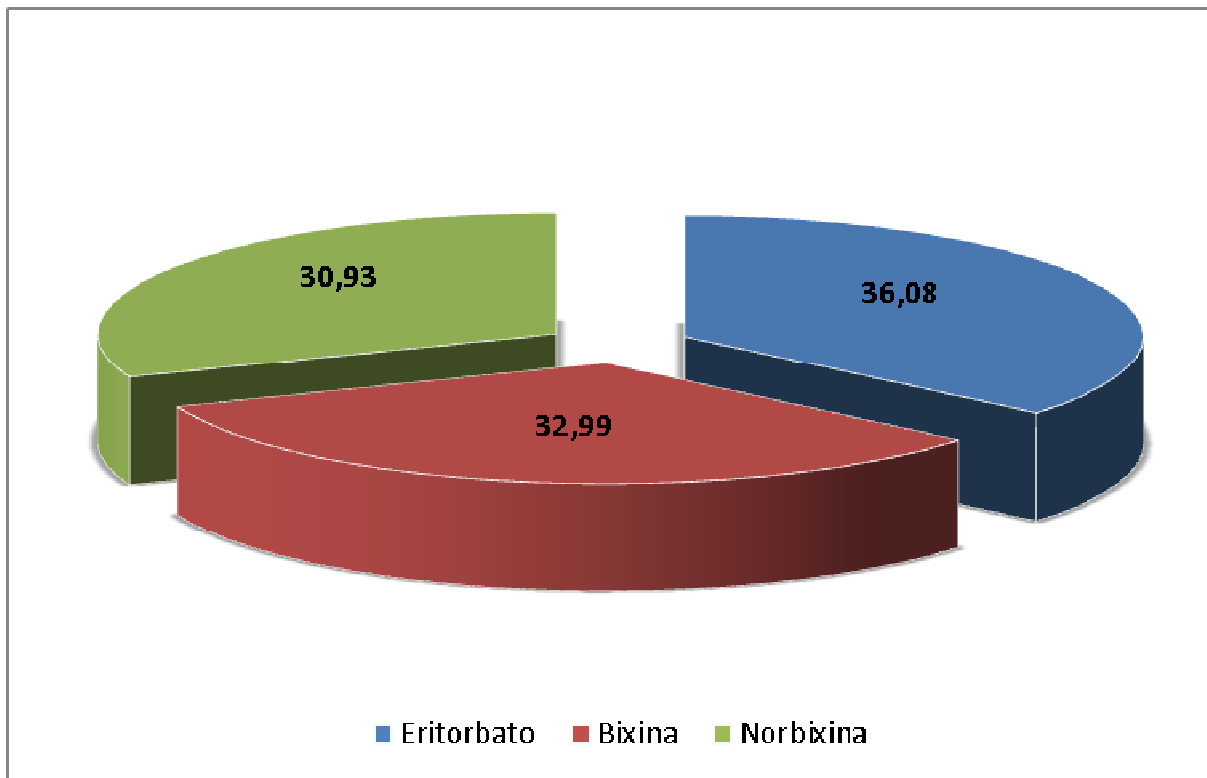


Figura 18- Resultado do teste de preferência para o atributo sabor (%)

As amostras contendo carotenóides não apresentaram o mesmo desempenho positivo para o atributo sabor, como ocorreu na avaliação de aparência, porém, a comparação entre as amostras também não demonstra prejuízo para o produto no atributo sabor, já que, o resultado não determina a preferência clara por qualquer uma das três amostras (Figura 18). Inicialmente estes resultados sugerem que a aplicação do carotenóide, especialmente a bixina, pode impactar de forma positiva no produto final.

4.2.3 Avaliação com escala hedônica para o atributo aparência.

Este experimento foi realizado, simultaneamente, entre as três amostras desenvolvidas de hambúrguer de tilápia cru, utilizando uma escala com nove atributos e variando gradativamente do atributo gostei muitíssimo ao atributo desgostei muitíssimo.

Os provadores foram instruídos a fazer a avaliação da aparência de cada uma das amostras, e selecionar um dos atributos da escala para cada uma das três amostras.

Em seguida foram atribuídos scores variando de 9 para gostei muitíssimo, e gradativamente decrescendo até 1 para desgostei muitíssimo, conforme tabela 4. Este procedimento tem por objetivo criar uma escala de valores numéricos (scores) que possibilitem aplicar avaliação estatística e, identificar a amostra de melhor desempenho para o atributo aparência além de verificar se há diferença significativa, em nível de 5 %, para este atributo.

A partir da organização do resultado de análise sensorial, para o atributo aparência e, associando os resultados aos respectivos scores, foi aplicado o teste de ANOVA (Tabela 6), onde foi verificado que; o valor de P é menor que 0,05 ($P=7,83 \times 10^{-23}$) e o valor de F calculado ($F_{\text{Calculado}}= 51,45$) é maior que F crítico ($F_{\text{Crít.}}=3,03$), assim, existe diferença significativa entre as amostras, em nível de 5%.. Em seguida foi aplicado o teste de Tukey para verificar a qual a diferença entre as amostras.

Tabela 6 – Teste Anova aplicado para o atributo aparência

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	226,2268	2	113,1134	51,4547	7,83E-20	3,027111
Dentro dos grupos	633,1134	288	2,19831			
Total	859,3402	290				

Em análise do resultado do teste de Tukey (Tabela 7) percebe-se que, em nível de 5%, as amostras que tiveram a aplicação dos carotenoides compõem um grupo onde as médias não apresentam diferença significativa entre si, e a amostra contendo eritorbato compõe um segundo grupo com média de aceitação inferior e apresentando diferença significativa, quando comparada com as amostras com carotenoides.

Tabela 7- Comparação entre as médias dos hambúrgueres de tilápia

TESTE DE TUKEY (5 % de significância)				
GRUPO	MÉDIA	Dms	-	+
Bixina	7,45 ^a	0,51	6,95	7,96
Norbixina	6,98 ^a	0,51	6,47	7,49
Eritorbato	5,39 ^b	0,51	4,89	5,90

Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa em nível de 5 %

Ao avaliar os resultados no histograma (Figura 19), percebemos que ao fazer a comparação entre os grupos, as amostras contendo os carotenoides concentram a maior parte

dos scores nos valores 7, 8 e 9, que correspondem as classificações de gostei, gostei muito e gostei muitíssimo, respectivamente. Já as amostras contendo eritorbato concentram o resultado nos scores 6, 5 e 4 que correspondem a Indiferente, desgostei ligeiramente e desgostei, respectivamente.

Assim, em análise final da comparação entre os resultados obtidos para as três amostras, é possível afirmar que a amostra contendo bixina apresenta o melhor resultado no atributo aparência com score médio de 7,45 contra 6,98 da amostra com norbixina e 5,39 da amostra com eritorbato, conforme Tabela 7.

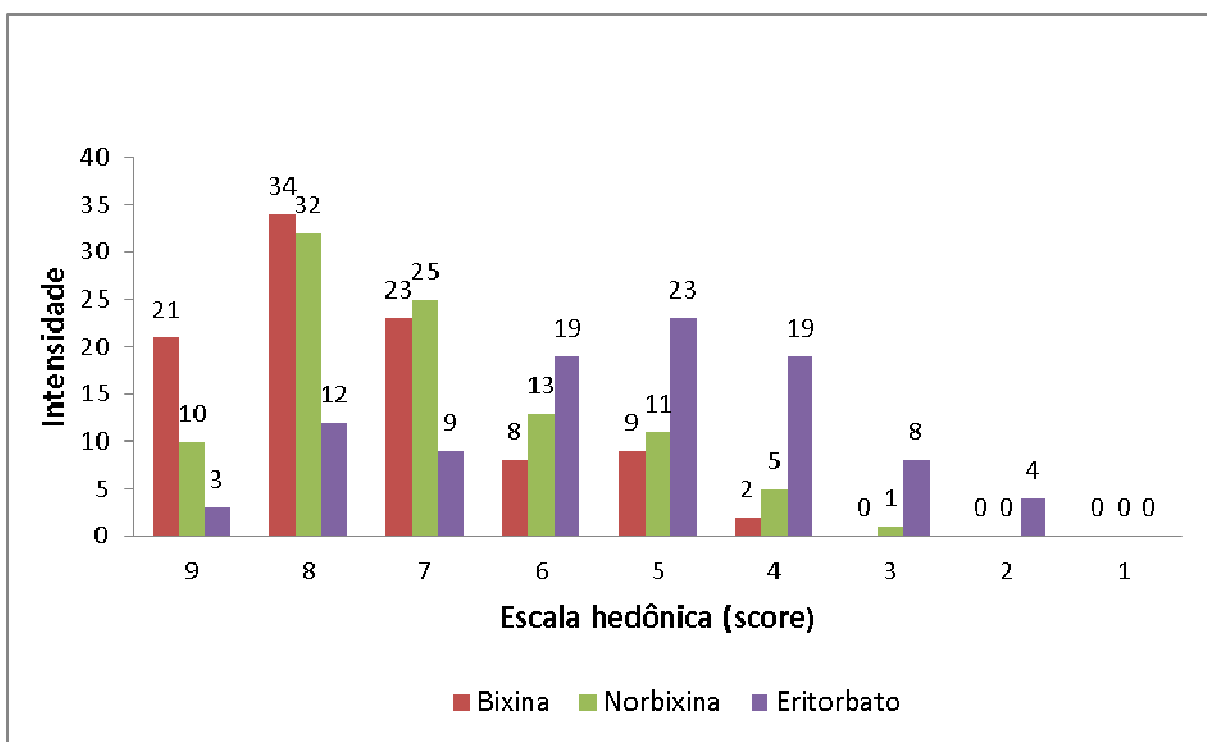


Figura 19- Resultado da comparação com escala hedônica pra atributo aparência.

4.2.4 Avaliação com escala hedônica para amostra com bixina

Entendendo que, o teste para comparação de sabor não apresentou influência na decisão de escolha dos provadores e o resultado obtido no teste de aparência, considerando as médias das amostras, indica a preferência pela amostra contendo bixina, foi realizado um teste de aceitação para o produto utilizado somente a amostra contendo bixina, e a escala hedônica com os mesmos valores atribuídos anteriormente.

Avaliando os resultados obtidos e apresentados na Figura 20, podemos verificar que o resultado para o atributo sabor foi bastante positivo, com a maior parte das respostas entre os

atributos que vão do gostar ligeiramente ao gostar muitíssimo. Sendo que, quase 70% das respostas concentram-se nos scores 7 e 8 que correspondem aos atributos gostei e gostei muito respectivamente.

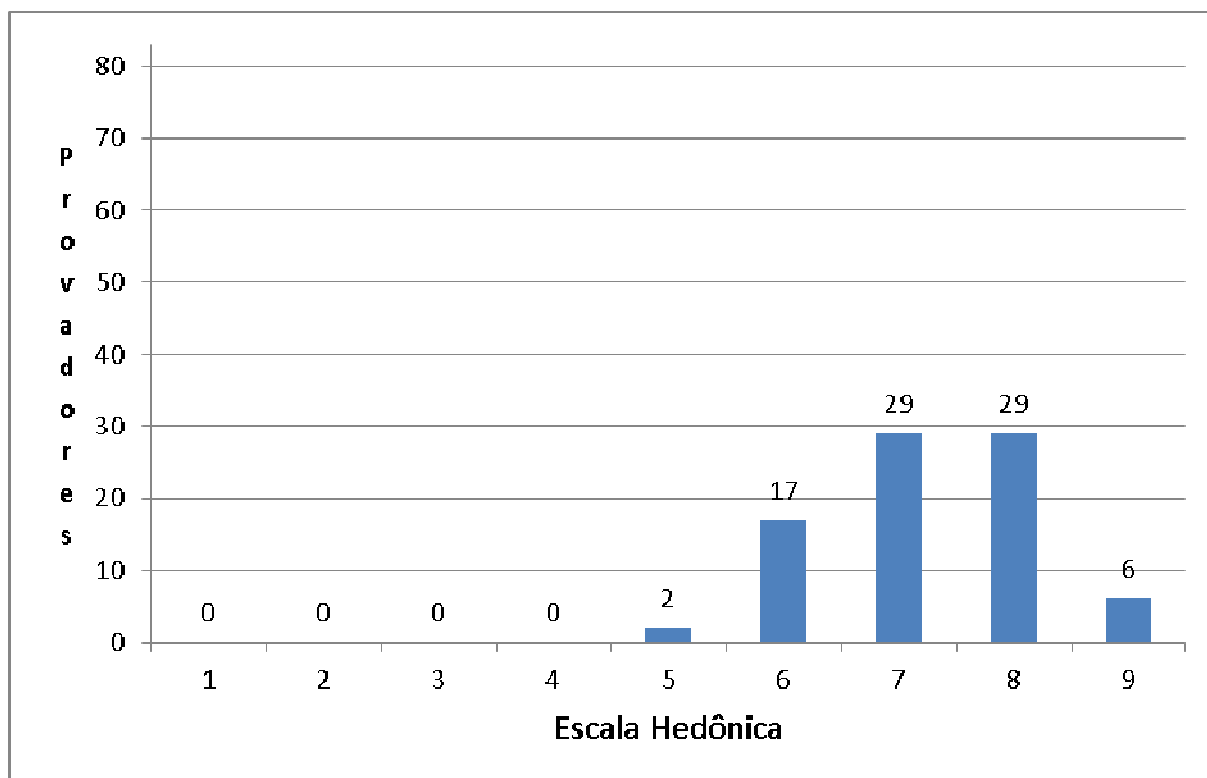


Figura 20- Resultado do teste de aceitação com escala hedônica.

Somente dois provadores, 2,41% do total, responderam fora do grupo de atributos que demonstra alguma intensidade de gostar, score 5 atributo de indiferença e nenhuma resposta negativa, ou seja, que envolva alguma intensidade para desgostar foi escolhido neste teste.

4.3 Aceitabilidade

Para realizar a avaliação da média geral obtida neste teste cada score foi multiplicado pelo número de provadores associados a este, em seguida foram somados os valores encontrados para cada score e por fim, dividido pelo total de provadores, chegando-se a média de 7,24 pontos. Se associarmos o score 9 como pontuação máxima, ou seja, 100% de aprovação, verificamos que com score médio de 7,24 o produto apresenta aceitação de 80,44%.

De acordo com Teixeira et. al.(1987), para que um produto seja considerado como aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que obtenha um índice de aceitabilidade de, no mínimo 70 %.

Diante destes resultados podemos afirmar que o produto obteve resultado muito bom na avaliação sensorial desenvolvida.

A avaliação sensorial, com a coleta e degustação de amostras ao longo do período de estocagem, pode ser aplicada para mensurar o aparecimento progressivo de produtos da degradação lipídica, causadores de *off flavors* ou *off odors* (SILVA et. al., 1999).

Os produtos da oxidação lipídica ou “ranço” tornam-se sensorialmente perceptíveis, para um para um conteúdo lipídico peroxidado da ordem de 0,5 % (JADHAV et. al., 1995; BERSSET, CUVELIER, 1996).

A dificuldade de execução e o custo elevado estão entre as principais dificuldades de aplicação da análise sensorial para avaliação da evolução da oxidação lipídica. A capacidade de reconhecer e quantificar os sabores e odores desagradáveis provenientes da oxidação lipídica necessita de longo período de treinamento para aprendizagem, variações na intensidade de odor e sabor podem ocorrer entre diferentes matrizes e/ ou interações com constituintes do produto, além da sensibilidade para avaliação diferir entre indivíduos. A comparação entre o método de análise sensorial e TBA, mostra que a utilização do método de TBA, mesmo não apresentando um resultado específico para substância formada, é mais prático e preciso (SILVA et. al., 1999).

Desta forma, justifica-se a dificuldade na busca de estudos que possam ser utilizados como referência tanto para determinação de metodologia quanto para avaliação entre resultados. Assim, neste estudo a avaliação sensorial limitou-se a identificação da preferência para atributos específicos e avaliação de aceitação de produto final utilizado provadores não treinados, conforme descrito anteriormente.

4.4 Avaliação da estabilidade dos hambúrgueres em sistemas-modelo

4.4.1. Sistema – modelo 1

Os valores encontrados para avaliação do efeito antioxidante da bixina e norbixina em comparação com eritorbato de sódio estão expressos em mg de malonaldeído por Kg, na Figura 21.

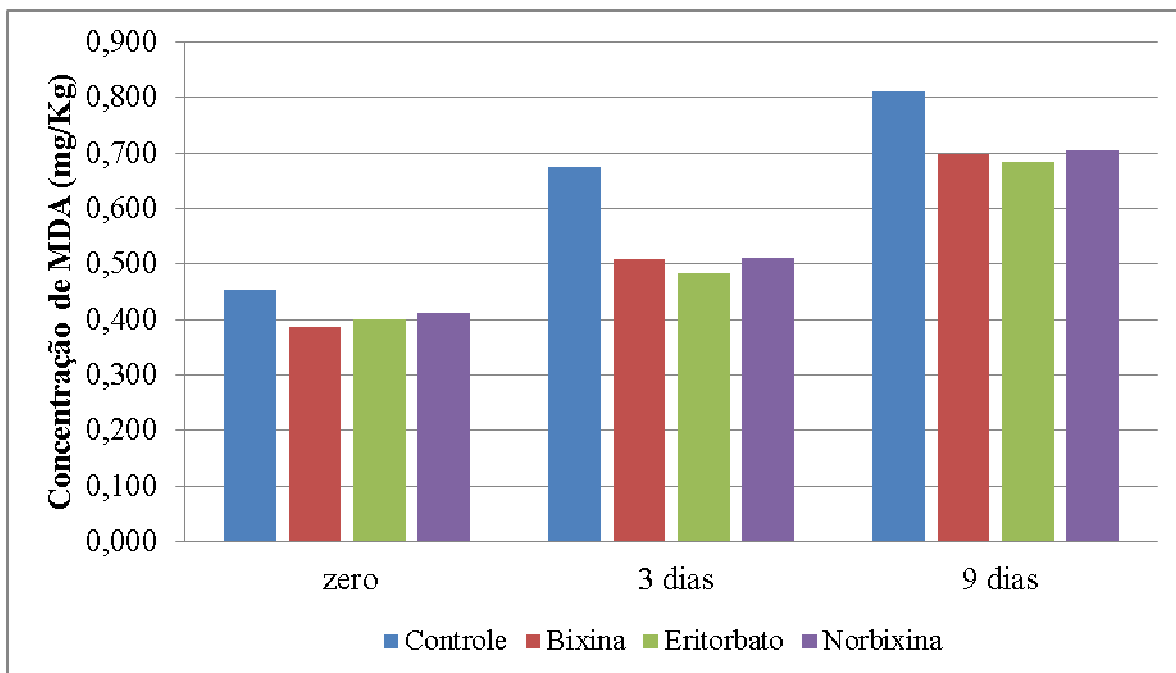


Figura 21- Evolução da formação de MDA em função do tempo sistema-modelo 1.

Durante o período e estocagem, os valores de TBARS nas formulações de hambúrgueres estudadas variou de 0,453 mg/Kg até 0,810 mg/Kg para amostra controle, para amostra com adição de bixina variou de 0,386 mg/Kg a 0,699 mg/Kg, para amostra com adição de norbixina variou de 0,412 mg/Kg a 0,705 mg/Kg e para amostra com adição de eritorbato de sódio variou de 0,401 mg/Kg a 0,683 mg/Kg (Tabela 6)

O processo de oxidação lipídica, mensurada a partir da formação do malonaldeído (MDA), quando comparado os carotenóides, bixina e norbixina, com o controle houve uma redução na formação do MDA ao longo do tempo de estocagem, portanto houve ação para o controle da oxidação lipídica, conforme na Figura 20. Na comparação destes carotenoides com o eritorbato de sódio, percebe-se que o desempenho para o controle do processo oxidativo foi melhor por parte do eritorbato, seguido da bixina e norbixina, que se apresentam desempenho bem semelhante ente si, compondo um mesmo grupo estatístico ao longo do experimento (Figura 21).

Com objetivo de avaliar melhor a eficiência entre a bixina e norbixina em comparação ao eritorbato de sódio, procedeu-se uma avaliação estatística das amostras com base na concentração de MDA, expressa em mg de malonaldeído (MDA) por Kg de produto, formados ao longo do período de 9 dias, com mensurações feitas nos tempos zero, 3 e 9 dias, conforme tabela 6.

Tabela 8- Evolução da oxidação lipídica no sistema-modelo 1

Dias	Valores de MDA (mg /Kg de amostra)			
	Controle	Antioxidantes		
		Bixina	Norbixina	Eritorbato
0	0,453 ^a ± 0,017	0,386 ^b ± 0,016	0,412 ^b ± 0,017	0,401 ^b ± 0,013
3	0,675 ^a ± 0,005	0,509 ^b ± 0,012	0,510 ^b ± 0,007	0,483 ^c ± 0,008
9	0,810 ^a ± 0,008	0,699 ^b ± 0,008	0,705 ^b ± 0,009	0,683 ^c ± 0,008

Letras na mesmalinha não difrem entre si no tempo de estocagem (média ± desviopadrão)

No início do experimento (tempo zero) somente amostra controle (sem antioxidante) mostrou alguma diferença entre as demais em nível de 5% de significância com os carotenóides e eritorbato de sódio mostrando ação semelhante para controle da oxidação lipídica.

Após o período de estocagem de três dias percebe-se o melhor desempenho para o controle do processo de oxidação por parte da amostra com eritorbato de sódio, porém, as amostras com bixina e norbixina não diferem entre si, em nível de 5% de significância, e quando comparadas com o controle, também mostram efeito sobre o controle na oxidação lipídica (Tabela 8).

Após o período de estocagem de nove dias verifica-se a confirmação dos resultados anteriores, onde a amostra com eritorbato de sódio mostra uma melhor capacidade no controle da oxidação lipídica quando comparada diretamente com as amostras com bixina e norbixina, e as amostras com bixina e norbixina não mostram diferença significativa, em nível de 5%, porém, apresentam eficiência no controle da oxidação quando o parâmetro de comparação é a amostra controle.

Assim, as comparações entre as médias das amostras de bixina e norbixina apresentaram diferença significativa, em nível de 5 %, nos tempos 3 dias e 9 dias, em comparação com o eritorbato de sódio. Porém, quando os resultados obtidos são comparados à amostra controle obtivemos resultado positivo para o controle da oxidação com todas as amostras. Embora o desempenho dos carotenóides tenha sido inferior nas concentrações estudadas, quando comparado com eritorbato de sódio, pode-se perceber que ambas estruturas avaliadas apresentaram resultado positivo para o controle do processo oxidativo, a partir da mensuração do MDA.

4.4.2 Sistemas-modelo 2

4.4.2.1 Hambúrgueres crus

Os resultados obtidos neste experimento, para a condição de produto cru, demonstram que as amostras contendo bixina e norbixina apresentam atividade antioxidante, quando comparadas a amostra controle. Porém, quando comparadas com a amostra contendo eritorbato de sódio, as amostras contendo bixina e norbixina apresenta eficiência inferior, porém, a amostra contendo bixina mostrou eficiência próxima, em comparação com eritorbato de sódio, nos períodos de 14 e 21 dias para o controle da oxidação (Figura 22).

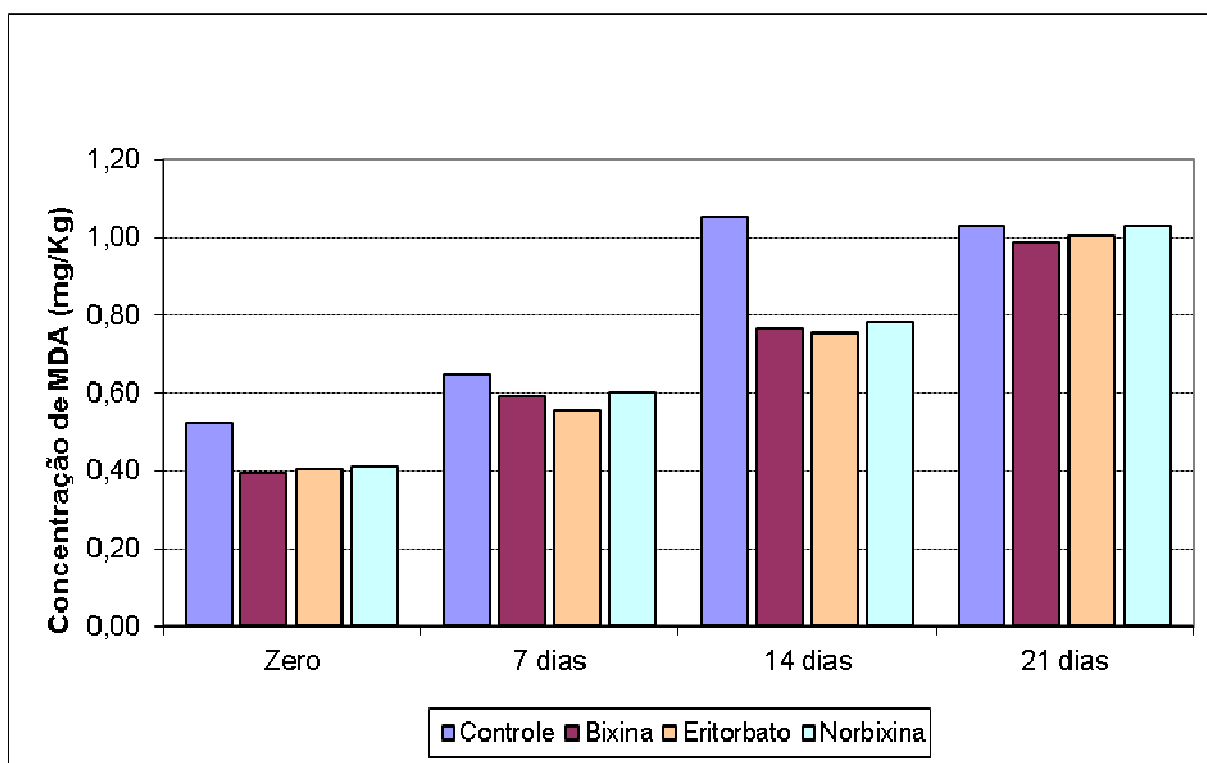


Figura 22 – Evolução na formação de MDA no produto cru ao longo de 21 dias de estocagem.

A comparação entre as amostras de hambúrguer cru contendo bixina e norbixina mostra o melhor desempenho para controlar a oxidação lipídica por parte da bixina, exceto no tempo zero dia onde as amostras não apresentam diferença estatística em nível de 5 %, porém, nos tempos 7, 14 e 21 dias, onde já é possível avaliar a ação do tempo no processo de oxidação, a bixina mostrou maior eficiência que a amostra com norbixina nestes tempos (Figura 22).

A comparação entre as amostras contendo bixina e eritorbato de sódio mostram o melhor desempenho por parte da amostra contendo eritorbato de sódio após 7 dias de estocagem, nos 14 dias de estocagem o desempenho por parte do eritorbato de sódio permanece melhor, porém, a amostra de bixina também apresenta semelhança com o grupo estatístico da amostra com eritorbato de sódio (Figura 22).

Aos 21 dias de estocagem a amostra contendo bixina apresenta melhor desempenho para controle da oxidação, porém, os valores de MDA formados são bastante semelhantes ao da amostra controle, fato que sugere que as amostras apresentam baixas concentrações dos antioxidantes (Figura 22).

Tabela 9- Evolução da oxidação lipídica no sistema-modelo 2 (Hambúguer cru).

Dias	Valores de MDA (mg /Kg de amostra)			
	Controle	Hambúrgueres crus		
		Bixina	Norbixina	Eritorbato
0	0,522 ^a ± 0,028	0,393 ^b ± 0,031	0,412 ^b ± 0,017	0,406 ^b ± 0,024
7	0,647 ^a ± 0,024	0,590 ^b ± 0,010	0,599 ^b ± 0,009	0,555 ^c ± 0,008
14	1,052 ^a ± 0,026	0,766 ^{bc} ± 0,004	0,785 ^b ± 0,006	0,756 ^c ± 0,005
21	1,029 ^a ± 0,005	0,987 ^b ± 0,003	1,031 ^a ± 0,003	1,005 ^{ab} ± 0,004

Letras na mesma linha não difrem entre si para tempo de estocagem.

Neste experimento percebe-se que; apesar do resultado ser referente ao tempo zero e para o produto cru, ou seja, sem ação do tempo de estocagem e aumento na temperatura de preparo, a amostra controle (0,522 mg/Kg), já apresenta diferença significativa para as amostras contendo bixina (0,393 mg/Kg), norbixina (0,412 mg/Kg) e eritorbato (0,406 mg/Kg) (Tabela 9). Este fato pode ser relacionado a variações de temperatura durante o processamento, especialmente entre as etapas de mistura e formatação do produto, onde foi registrado um aumento de temperatura da massa, na ordem de 10 °C, por conta do atrito e pressão aplicados pelos equipamentos durante o processamento.

Ao iniciar o processo de mistura a massa media - 8 °C, e ao final da etapa de formatação do hambúguer a temperatura era de 0,9 °C. Portanto este aumento de temperatura pode ser responsável pelo início do processo oxidativo, percebido na amostra controle com maior intensidade que nas demais amostras. Desta forma, ao compararmos o resultado obtido para as amostras com bixina e norbixina com a amostra controle percebemos que, ambos os

carotenoides apresentam atividade antioxidante e, sem diferença significativa entre si e em comparação com eritorbato de sódio (Tabela 9)

O resultado para o hambúrguer cru, após sete 7 dias de estocagem, apresenta três grupos estatisticamente iguais (Tabela 9). Primeiro formado pela amostra controle com maior produção de MDA (0,647 mg/Kg), conforme esperado; no segundo grupo estão as amostras contendo os carotenóides bixina (0,590 mg/Kg) e norbixina (0,599 mg/Kg) que, apresentam atividade antioxidante, porém, com menor eficiência que a amostra com eritorbato de sódio (0,555 mg/Kg) que representa o terceiro grupo (Tabela 9)

No tempo 14 dias, novamente os resultados mostram três grupos estatisticamente iguais, onde a amostra contendo eritorbato de sódio (0,756 mg/Kg) se mantém mais eficiente para o controle da oxidação que as amostras contendo bixina (0,766 mg/Kg) e norbixina (0,785 mg/Kg) (Tabela 9). Porém, neste experimento a amostra contendo bixina apresenta uma eficiência bastante semelhante a da amostra com eritorbato de sódio, possibilitando a inclusão da amostra com bixina, em dois grupos estatísticos, com eficiência semelhante ao eritorbato (0,756 mg/Kg) e simultaneamente semelhante à norbixina (0,785 mg/Kg). Isto sugere que o tempo de estocagem, sob a temperatura estudada, possa apresentar alguma influência na eficiência, para controlar a oxidação, nos carotenoides estudos.

Embora os resultados, no tempo 21 dias, ainda mostrem três grupos estatisticamente iguais, a comparação entre as amostras contendo os antioxidantes bixina (0,987 mg/Kg), norbixina (1,031 mg/Kg) e eritorbato de sódio(1,005 mg/Kg) não apresentam eficiência superior para controle do processo de oxidação, como ocorreu nos experimentos anteriores. Quando comparados com a amostra controle (1,029 mg/Kg), nesta última etapa a amostra com bixina apresenta o melhor resultado de eficiência no controle da oxidação que a amostra contendo eritorbato de sódio (Tabela 9).

Fazendo uma análise comparativa entre o sistema-modelo 1 e esta primeira etapa do sistema-modelo 2, que avaliou os hambúrgueres crus, é possível verificar a semelhança em alguns resultados bastante significativos para este experimento. Em primeiro lugar, comparação entre as estruturas dos carotenoides bixina e norbixina mostram, nos dois sistemas-modelo, que ambas as estruturas apresentam ação antioxidante quando comparadas a amostra controle, a bixina apresenta melhor eficiência para o controle da oxidação quanto comparada a norbixina e o desempenho da bixina para o controle da oxidação foi muito próximo, porém, estatisticamente diferente ao do eritorbato de sódio, que apresentou o melhor desempenho. Outro fato importante, que pode ser verificado nos dois sistemas-modelo, é a

melhoria no desempenho da bixina, para o controle da oxidação, com a progressão do período de estocagem. No sistema-modelo 1, apesar do eritorbato de sódio ainda permanecer em grupo estatisticamente deferente e de melhor eficiência, esta diferença é bastante inferior quando comparamos os valores no período de 3 dias de estocagem (bixina-0,509 mg/Kg e eritorbato 0,483 mg/Kg) e os valores no período de 9 dias de estocagem (bixina-0,699 mg/Kg e eritorbato 0,683 mg/Kg). No sistema-modelo 2, o eritorbato em comparação com a bixina apresentou melhor desempenho, com diferença significativa em nível de 5 %, somente após 7 dias de estocagem, nos períodos de 14 dias e 21 dias de estocagem as amostras ocuparam o mesmo grupo estatístico. Estes resultados podem estar relacionados com a diferença de solubilidade e polaridade entre as estruturas e interferindo na estabilidade durante a estocagem.

Os valores obtidos nos experimentos que para os sistemas-modelo 1 e 2 podem ser considerados reduzidos se comparados aos resultados obtidos por Fogaça et. al. (2007) que, em experimento que também avalia a evolução do processo de oxidação em hambúrgueres de tilápia utilizando índice de TBA, este experimento baseou-se na comparação entre o efeito do tocoferol aplicado à dieta da tilápia e o efeito do tocoferol aplicado diretamente no músculo após o abate. Os filés obtidos nos diferentes tratamentos foram utilizados para desenvolvimento dos hambúrgueres para posteriormente efetuar a comparação na eficiência do controle da oxidação lipídica. A aplicação do tocoferol ocorreu na ordem de zero, 100 e 200 mg/Kg e os valores médios para o índice de TBARS foram expressos em mg/Kg. O índice médio de TBARS obtido para zero de adição de tocoferol foi 3,47 mg/Kg, para 100 mg de tocoferol foi 1,34 mg/Kg e para 200 mg de tocoferol 1,67 mg/Kg, no tempo zero. A diferença entre os resultados pode estar relacionada a condições de cultivo, manejo no pré e pós abate, alimentação e condição de estocagem dos filés entre os períodos pós abate e início do experimento, além de diferenças nas formulações utilizadas para fabricar o hambúrguer. Os valores obtidos nos demais períodos analisados neste experimento, não podem ser diretamente relacionados, principalmente em função das diferentes condições de tempo e temperaturas utilizadas neste experimento, além da utilização de diferentes substâncias para avaliação da estabilidade oxidativa.

4.4.2.2 Hambúrgueres assados

No experimento que avaliou a condição para hambúrguer assado, percebe-se que a amostra contendo norbixina não apresenta boa estabilidade térmica, apresentando resultados

semelhantes, em termos estatísticos, com a amostra controle. Já na comparação entre as amostras controle e bixina fica claro a atividade antioxidante por parte da bixina.

A comparação ao longo do experimento entre as amostra contendo bixina e norbixina mostra a maior eficiência por parte da bixina, como ocorreu com hambúrguer cru. Porém, nesta condição de avaliação (produto assado) a diferença entre as amostras foi bastante significativa, já que, os resultados obtidos para amostra com norbixina são semelhantes aos resultados obtidos com a amostra controle (Figura 23).

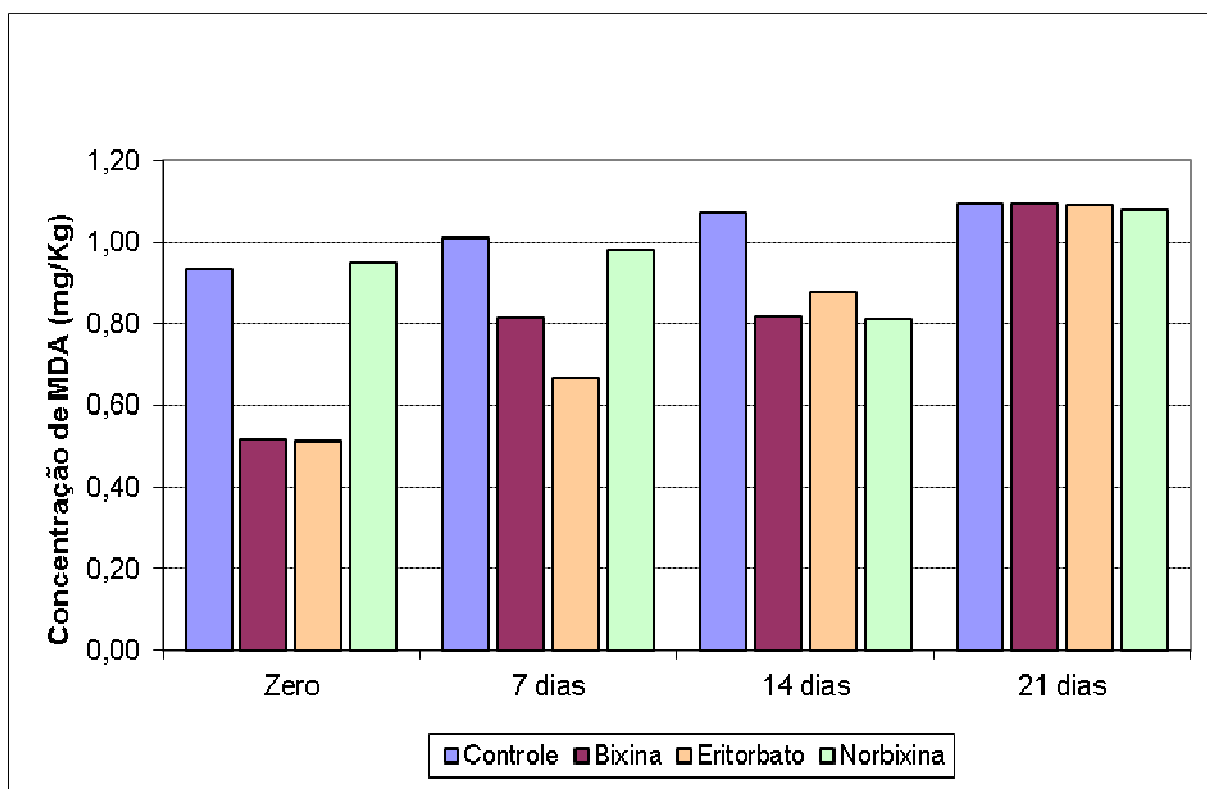


Figura 23- Evolução na formação de MDA no produto assado.

Em comparação entre os resultados das amostras contendo bixina e eritorbato de sódio, descritos na Tabela 10, é possível verificar que estas estruturas não apresentam diferença significativa no início do processo, tempo zero, e apresentam respostas diferentes nos tempos 7 e 14 dias de estocagem. No tempo zero, as amostras contendo bixina e eritorbato de sódio apresentam resultados estatisticamente iguais para o controle da oxidação. No tempo sete dias a amostra contendo eritorbato de sódio apresenta melhor eficiência que a amostra contendo bixina. Já nos quatorze dias a resposta de melhor eficiência é da amostra contendo bixina, enquanto aos vinte e um dias de estocagem, todas as amostras (bixina,

eritorbato de sódio e norbixina) apresentam resultado, estatisticamente iguais em nível de 5%, à amostra controle.

Tabela 10- Evolução da oxidação lipídica no sistema-modelo 2 (Hambúguer assado)..

Dias	Hambúrgueres Assados			
	Controle	Antioxidante		
		Bixina	Norbixina	Eritorbato
0	0,935 ^a ± 0,057	0,515 ^b ± 0,022	0,948 ^a ± 0,087	0,514 ^b ± 0,025
7	1,011 ^a ± 0,044	0,816 ^b ± 0,006	0,981 ^a ± 0,017	0,668 ^c ± 0,005
14	1,052 ^a ± 0,026	0,766 ^c ± 0,004	0,785 ^c ± 0,006	0,756 ^b ± 0,005
21	1,093 ^a ± 0,020	1,094 ^a ± 0,022	1,081 ^a ± 0,021	1,090 ^a ± 0,017

Letras na mesma linha não difrem entre si para tempo de estocagem.

Ao compararmos o resultado das análises para formação de MDA após o processamento térmico, no tempo zero, percebemos dois grupos de amostrais estatisticamente iguais, o primeiro representado pela amostra contendo norbixina (0,948 mg/Kg) e a amostra controle (0,935 mg/Kg) e o segundo representado pela amostra contendo bixina (0,515 mg/Kg) e amostra com eritorbato de sódio (0,514 mg/Kg). Os resultados mostram que a bixina apresenta melhor desempenho para o controle do processo oxidativo, em comparação com a norbixina, após o processamento térmico (Tabela 10).

Na avaliação do hambúguer assado, no tempo 7 dias de estocagem, percebe-se que a amostra contendo o carotenoide norbixina novamente tem o desempenho, como antioxidante, comprometido após o processamento térmico, fato que pode sugerir que esta estrutura (hidrossolúvel) apresente baixa estabilidade quando submetida a temperaturas elevadas (Tabela 10).

A amostra contendo bixina permaneceu mostrando boa atividade antioxidante após processamento térmico quando compara a amostra controle, porém, com eficiência inferior quando comparada a amostra contendo eritorbato de sódio (Tabela 10).

A comparação entre os resultados dos produtos cru e assado, no tempo sete dias, demonstra que a amostra contendo bixina apresenta melhor resposta para o controle da formação de MDA, quando comparada com as amostras contendo norbixina e controle, nas duas condições avaliadas e, quando comparada com a amostra contendo eritorbato de sódio apresenta eficiência inferior, especialmente quando o produto é assado.

Os resultados continuam mostrando dois grupos estatisticamente diferentes, porém, após 14 dias de estocagem e o processamento térmico, as amostras contendo os carotenóides bixina e norbixina apresentam eficiência superior a mostra com eritorbato de sódio.

Embora não tivesse apresentado resultado, para eficiência, melhor que a amostra contendo eritorbato de sódio, a amostra contendo bixina mostrou eficiência para o controle da oxidação ao longo de todo experimento nas amostras de hambúrguer cru e assado. Este melhor desempenho nos 14 dias de estocagem, em comparação com a amostra contendo eritorbato de sódio, como ocorrido no sistema-modelo1 e na avaliação do produto cru para o sistema-modelo 2, sugere que a estrutura lipossolúvel do carotenóide apresente maior estabilidade ao longo do tempo de estocagem. Porém, a amostra contendo norbixina mostrou uma incomum melhoria de eficiência para o hambúrguer assado após quatorze dias de estocagem. É possível que este fato também esteja ligado a estrutura do carotenóide, já que a norbixina é hidrossolúvel, é possível uma fração deste composto não tenha sido totalmente solubilizado na fração de água da formulação, dificultando a distribuição e interação na massa durante o processo de preparo e mistura da massa e possibilitando assim, que uma fração deste carotenóide não interagisse imediatamente na massa, ocorrendo a solubilização no produto final durante a estocagem, causando interferência nesta etapa do experimento.

O resultado para o experimento no período de 21 dias de estocagem, com hambúrguer assado não mostra diferença significativa, em nível de 5 %, entre as amostras. Este resultado sugere que as amostras contendo bixina, norbixina e eritorbato de sódio já não apresentam ação antioxidante significativa, quando comparadas com a amostra controle. Este resultado mostra, também, a interferência das altas temperaturas de estocagem e de preparo na velocidade de oxidação lipídica, e também sugere a redução na eficiência do antioxidante por degradação térmica. Isto pode ser verificado comparando os resultados do experimento entre as amostras de hambúrguer assado e cru e no tempo 21 dias, onde, foi percebido que a atividade antioxidante no hambúrguer cru ainda é mensurável, mesmo embora os valores obtidos estivessem muito mais próximo do resultado da amostra controle.

Castro et.al.(2011) aplicou modelo semelhante de experimento para avaliação do efeito da aplicação de colorífico em carne de frango para controle de oxidação lipídica, cor e vitamina E, fazendo avaliação no produto cru e grelhado com e sem adição de colorífico. Utilizando como metodologia para mensurar a oxidação o índice de TBA com resultados expressos em mg/ Kg, conforme proposto neste experimento. Embora as matrizes e condições de estocagem sejam diferentes entre os experimentos, as respostas obtidas nos experimentos

são bastante semelhantes, mostrando valores maiores na avaliação do produto grelhado (índices de TBA) e evidenciando o controle da oxidação lipídica nas amostras contendo o colorífico tanto para produto cru como grelhado. Além da comprovação da ação antioxidante por parte do colorífico, Castro relata também, uma provável ação sinérgica entre o colorífico e a vitamina E para proteção da oxidação lipídica.

A verificação destes carotenoides no controle da oxidação lipídica também foi verificada por Mercadante (2010), em experimento que onde foi verificado o efeito de diferentes pigmentos naturais na estabilidade oxidativa de salsichas estocadas sob refrigeração. Este experimento baseou-se na aplicação de Norbixina, β -caroteno, licopeno e zeaxantina em concentrações iguais substituindo o eritorbato de sódio como agente antioxidante. Gerando quatro formulações, uma com cada pigmento, para comparação com o eritorbato de sódio no controle da oxidação lipídica, a verificação do processo de oxidação foi realizada utilizando o índice de TBA mensurado ao longo de 45 dias de estocagem. Os resultados obtidos mostraram o melhor desempenho, por parte da zeaxantina e norbixina para o controle do processo de oxidação lipídica e estabilidade de cor entre os demais pigmentos. A resposta para o melhor desempenho por parte da norbixina e zeaxantina foi relacionada com as polaridades intermediárias apresentadas por estas estruturas.

A comparação entre o desempenho da norbixina para o experimento realizado por Mercadante (2010) e o desempenho nos sistemas-modelo 1 e 2, propostos neste estudo, mostra resultados bastante diferentes entre os experimentos. Especialmente para o experimento no sistema-modelo 2 que faz avaliação no produto assado.

A diferença entre os experimentos pode ser relacionada a diferenças entre as matrizes e condições de estocagem. Porém, a diferença entre tecnologia de processamento para obtenção de salsicha e hambúrguer, certamente exerce influência nesta resposta. Entre as etapas que envolvem a elaboração da massa de salsicha estão trituração, refino e emulsificação da massa e conseqüentemente, a completa homogeneização e solubilização dos ingredientes. Enquanto a elaboração da massa de hambúrguer, envolve somente as operações de moagem e mistura que resulta em massa “grossa” onde a possibilidade de dificuldade de solubilização de algum ingrediente é maior, como sugerido anteriormente na discussão dos valores obtidos no tempo 14 dias para o produto assado.

4.5 Sugestões de trabalhos futuros

Após a realização deste experimento e durante a fase de avaliação e discussão dos resultados, algumas possibilidades de melhoria foram verificadas, porém, não puderam ser implementadas em função da falta de tempo e disponibilidade de alguns recursos. Desta forma fica como sugestão para trabalhos futuros.

- ✓ Com a finalidade de facilitar a conclusão de alguns resultados é interessante a verificação, em literatura e/ou determinação prática, a solubilidade da norbixina e estabelecer a melhor forma de aplicação e/ou preparo de massa com este carotenoide, e assim evitando qualquer possibilidade de interferência nos resultados.
- ✓ Fazer a mensuração do processo de oxidação aplicando outros métodos analíticos de resposta mais precisa, como cromatografia, e estabelecer uma correlação entre métodos diferentes.
- ✓ Fazer a mensuração de outras estruturas susceptíveis ao processo de oxidação e que também apresentem importância para saúde, como colesterol, e caso seja possível, estabelecer uma correlação entre os processos oxidativos.
- ✓ Verificar a estabilidade de coloração no hambúrguer ao longo do período de estocagem aplicando métodos de avaliação sensorial e sistemas de padrões de cor.
- ✓ Verificar a viabilidade e eficiência da aplicação da norbixina e bixina em sinergia com outros antioxidantes naturais e com eritorbato de sódio.
- ✓ Verificar a possibilidade de mensurar em análise sensorial e correlacionar com valor de TBA, a alteração de sabor e odor que caracterizem o processo de oxidação, utilizando público treinado e não treinado.

5. CONCLUSÃO

Com o desenvolvimento deste experimento podemos afirmar que, embora estes resultados não tenham sido plenamente favoráveis a aplicação das duas estruturas de carotenóides como antioxidantes, estes foram bastante satisfatórios quando avaliamos o proposto para desenvolvimento. As análises de composição centesimal e informação nutricional mostram o hambúrguer de tilápia como uma ótima fonte de proteínas (17,8 2% média) e baixo valor calórico (63 Kcal/50g) e de composição lipídica de boa qualidade composta basicamente por ácidos graxos insaturados e polinsaturados provenientes do pescado e do óleo de soja.

O processo de desenvolvimento da formulação do hambúrguer de tilápia envolveu o cuidado para não acrescentar agentes que pudessem causar interferência nos resultados das análises de TBA, porém, com a preocupação de obter boa aceitação na avaliação sensorial. Os resultados das análises sensoriais apontaram para o produto com a aplicação de bixina com o melhor desempenho global, entre as três amostras avaliadas, com resposta de 80,44 % de aceitação na avaliação sensorial com aplicação da escala hedônica.

Os principais pontos propostos envolviam a avaliação da capacidade de atuação e eficiência da bixina e norbixina como agentes antioxidantes, o desenvolvimento de formulação de hambúrguer de filé de tilápia com resultados sensorialmente positivos para os atributos sabor e aparência e a determinação da composição centesimal e nutricional do produto.

Para avaliação como agentes antioxidantes os resultados mostraram que ambas estruturas quando comparadas diretamente a amostra controle apresentaram controle do processo de oxidação no produto cru, porém, após tratamento térmico a norbixina mostra-se pouco eficiente neste controle, enquanto a bixina mantém ação de retardamento da oxidação.

Quanto aos testes para avaliação da eficiência da bixina e norbixina como antioxidantes, nos sistemas-modelo propostos foi demonstraram que as duas estruturas apresentam ação antioxidante, quando comparadas à amostra controle, porém, com eficiências diferentes. Na comparação com eritorbato de sódio, a bixina apresentou resultado mais próximo ao do eritorbato de sódio nas diferentes condições propostas, enquanto a norbixina mostrou eficiência reduzida, especialmente, após o tratamento térmico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AB-TILÁPIA – Associação Brasileira da Indústria de Processamento de Tilápia. Disponível em: http://www.abtilapia.com.br/?interna=Ref_escolha. Acesso em: 21 de Novembro de 2008.
- AGUIRREZABAL, M.M.; MATEO, J.; DOMINGUEZ, M.C. & ZUMALACARREGUI, J.M. The effect of paprika, garlic, and salt on rancidity in dry sausages. *Meat Science*, v.54, p. 77-81, 2000.
- AOCS : Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society, AOCS : Champaign, 2004.
- AVANCINI, M.C.T. ; GANEO, A.M.S.B. ; CUNHA, L.F. ; BERTAIA, M.C. ; POMPOERMAYER, N. Análise da composição centesimal e rotulagem nutricional no desenvolvimento de hambúrguer de tilápia – 6 Mostra Acadêmica da Universidade Metodista de Piracicaba (UNIMEP). Piracicaba - SP, 2008.
- BAILEY, A.E.; *Bailey's Industrial Oil and fat products*, 5th ed. John Wiley: New York, v. 3, 1996.
- BARREIROS, A.L. ; DAVID, J. M. ; DAVID, J. P. Estresse oxidativo : relação entre espécies reativas e defesa do organismo. *Quimica Nova*, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BECKER, E. M.; NISSEN, L. R.; SKIBSTED, L. H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *Eur. Food Res. Technology*, v. 219, p. 561-571, 2004.
- BERSET, C.; CUVELIER, M.E. *Sciences des aliments* 1996, 16, 219.
- BIANCHI, M.; ANTUNES, L. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev. Nutr.*, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- BÖSINGER, S., LUF, W., BRANDL, E. Oxysterols: their occurrence and biological effects. *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.3, p.1-33, 1993.
- BARETH, A.; STROHMAR, W.; KITZELMANN, E. HPLC and spectrophotometric determination of annatto in cheese. *European Food Research and technology*, Heildeberg, v. 215, n. 4, p. 359-364, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº20 de 31 de julho de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hambúrguer, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto. Disponível em: www.agricultura.gov.br/sislegis-consultarlegislacao. Acessado em 22/05/2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº20 de 21 de julho de 1999. Oficializa os métodos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes. Disponível em: www.agricultura.gov.br/sislegis-consultarlegislacao. Acessado em: 25/05/2010

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. Consumo per capita aparente de pescado no Brasil 1996 a 2009. Disponível em: www.mpa.gov.br. Acessado em 15/09/2010

CAMPOS, F.M. et al. Estabilidade de compostos antioxidantes em hortaliças processadas: uma revisão. *Alim. Nutr.*, v.19, n.4, p. 481-490, 2008.

CASTRO W.F.; MARIUTTI R.B.; BRAGAGNOLO N. the effects of colorifico on lipid oxidation, color and vitamin E in raw and grilled chicken patties during frozen stored. *Food Chemistry*, v.124, p. 126-131, 2011.

CERQUEIRA, F.; MEDEIROS, M.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. *Quím. Nova*, v. 30, n 2, p. 441-449, 2007.

CHAVES, J.B.P. Prática de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas. Viçosa, UFV. 81p., 1999.

CHEN, B. H.; CHEN, Y. C. Evaluation of the analysis of cholesterol oxides by liquid chromatography. *J. Cormatogr. A.*, v. 66, n. 1-2, p. 127-136, 1994.

CHEN, J.; YEH, G. Cholesterol oxidation products in small Sun-dried fish. *Food Chem.*, v. 50, n. 167-170, 1994.

CHOE, E.; MIN, D.B. Chemistry and reactions of restive oxygen species in food. *Journal of Food Science*. V. 70, p. 143-159, 2005.

CHOE, E.; MIN, D.B. Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science*. V. 72, p. 77-86, 2007.

CONTO, W. L. do; OLIVEIRA, V. P.; CARVALHO, P. R. N.; GERMER, S. P. M. Estudos econômicos de alimentos processados. Campinas: ITAL- Instituto de Tecnologia de Alimentos. p.65, 1991.

CRASTES DE PAULET, A., ASTRUC, M. E., BASCOUL, J., DEFAY, R. Biological effects of oxysterols. In: CRASTES DE PAULET, A., DOUSTE-BLAZY, L., PAOLETTI, R., eds. Free radicals, lipoproteins membrane lipids. New York: Plenum Press, 1990. p.291-300.

CSALLANY, A. S.; KINDOM, S. E.; ADDIS, P. B.; LEE, J.- H. HPLC method for quantitation of cholesterol and four of its major oxidation products in muscle and liver tissues. *Lipids*, Champaign. v.24, n.7, p.645-651, 1989.

DAVEY, M ; VAN MONTAGU, M ; INZE, D. ; SANMARTIN, M. ; KANELIS, A. ; SNMIRNOFF, N. ; BENZIE, I. J. J.; STRAIN, J. J.; FAVELL, D.; FLETCHER, J. Plant L-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J. Sci. food Agri.*, v. 80, n. 7, p. 825-860, 2000.

DIMITRIUS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends food Sci. Tecnol.*, v. 17, n. 9, p. 505-512, 2006.

ESTERBAUER, H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.57, n.5, p.S779-S786, 1993. Supplement

FENNEMA, O. R.; SRINIVASAN, D.; KIRK, P. *Química de alimentos de Fennema*. Porto Alegre, Artmed 4 ed., 900 p., 2010.

FERRARI, C.K.B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: Mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. *Ver. Nutr.*, Campinas, v.11, n.1, p.3-14, 1999.

FERREIRA, R.M.A.; FERNADES, P.L.O.; FONTES, L.O.; RODRIGUES, A.P.M.S; SILVA, L.T. Antioxidantes e sua importância na alimentação. *Ver. Verde*, Mossoró, v. 5, n. 5, p. 26-30, 2010.

FILHO, P.R.C.O. TRINDADE, C.S.F.; TRINDADE, M.A.; BALEIRO, J.C.C; VIEGAS, E.M.M. Quality of sausage elaborated using minced Nile tilapia submitted to cold stored. *Ciências Agrícolas*, Piracicaba. V. 67, n. 2, p. 183-190, 2010.

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

GUARDIOLA, F., CODONY, R., RAFECAS, M., BOATELLA, J. Formación de derivados oxidados del colesterol en alimentos. *Grasas Aceites*, Sevilla, v.46, n.3, p.22-212, 1995.

GRAY, J.I., GOMAA, E., A., BUCKLEY, D.J. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, Essex, v.43, n.1, p.S111-S123, 1996. Supplement.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Produção Agrícola Municipal: Culturas temporárias e permanentes*. Disponível em: www.ibge.gov.br; acessado em 10/05/2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos físico-químicos para análises de alimentos*. 4 ed., 1 ed. digital, São Paulo, 2008, v. digital, p. 1020.

JADHAV, S.J.; NIMBALKAR, S.S.; KULKARNI, A.D.; MADHAVI, D.L.; RAJALAKSHIMI, D.; NARASIMHAN, S. Food antioxidants: Technological, and health perspectives;.; Madhavi D.L., Desphande S.S., Salunkhe D.K., ed. Marcel Dekker Inc.; New York 1995, p.5.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Effect of radiation processing on the quality of chilled meat products. *Meat Science*, Oxford, v. 69, n. 2, p. 269-275, 2005.

KANNER, J. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Science*, Essex, v.36, n1/2, p.169-189, 1994.

KENDALL, C. W.; KOO, M.; SOKOLOFF, E.; KESAVARAO, G. Effects of dietary oxidized cholesterol on azoxymethane induced colonic preneoplasia in mice. *Cancer Lett.*, Shannon, v.66, p.241-248, 1992.

KIRK, J.R. Biological availability of nutrients in processed foods. *Journal of Chemical Education*, v.61, n.4, p.364-367, 1984.

- KOUL, V. K.; KOUL, S.; TIKOO, C.L. Process optimization for extraction and purification of bixin from annatto. *Indian Journal of Chemical technology*, New Delhi, v. 10, p. 545-547, 2003.
- KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. *Free Radical Biology and Medicine*, New York, v.12, n.1, p.63-81, 1992.
- LARA, J.A.F. de; GARBELINI, J.S, DELBEM, A.C.B. Tecnologias para a agroindústria: processamento artesanal do pescado do Pantanal. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2007. 5 p. (Embrapa Pantanal. Circular Técnica, 73). Disponível em: www.cpap.embrapa.br/publicacoes/ Acessado em: 31/06/ 2010.
- LINDSAY, D., G. Dietary contribution to genotoxic risk and its control. *Food and Chemical Toxicology*, Oxford, v.34, n.4, p.423-431, 1996.
- MARIGO, C. Câncer na América Latina: Perspectivas sombrias. *Revista Brasileira de Cancerologia*, Rio de Janeiro, v.41, n.2, p.63-74, 1995.
- MARIUTTI L.R.B, BRAGAGNOLO N. A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais. *Rev Inst Adolfo Lutz*, São Paulo, v.68, p.1-11, 2009.
- MAERKER, G. Cholesterol autoxidation-current status. *J.Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.64, n.3, p.388-392, 1987.
- MADSEN, H.L. & BERTELSEN, G. Species as antioxidants. *Trends In Food Science and Technology*, v.6, p.271-277, 1995.
- MATTA J.O.S.; CUNHA R.D. Aqüicultura e pesca: Tilápia: sumário executivo. Estudos de mercado: SEBRAE/ESPM. Set. 2008.
- MELO, A. A. A.; LIMA, L. C. F. A situação da cultura de urucum no Brasil e perspectivas. *Vitória da Conquista. UESB*, p. 9-19, 1990.
- MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI C. D.; DECKER E. A.; CASTRO I. A. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored. *Meat Science*, v. 84. p. 718-726, 2010.
- MERCADANTE, A. Z.; PFANDER, H. Carotenoids from annatto: Review recent. *Food chemistry*. v.2, p. 79-91, 1998.
- MININ, V. P. R: *Análise sensorial: estudos com consumidores*, Viçosa, editora UFV, 2006, 225p.
- MORALES-AIZPURUA I. C. Formação de óxidos de colesterol em maionese mantida em diferentes condições de estocagem. São Paulo, 2001. 127p. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas Universidade de São Paulo.
- MORALES-AIZPURÚA, I. C.; TENUTA-FILHO, A. Óxidos de colesterol: ocorrência em alimentos, formação e efeitos biológicos. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, São Paulo, v.38, n.4, p.431-442, 2002.

MOREL, D. W., LIN, C. Y. Cellular biochemistry of oxysterols derived from the diet or oxidation in vivo. *Nutr. Biochem.*, New York, v.7, p.495-506, 1996.

MOURA, A. F. P. Efeito do processamento térmico sobre a ocorrência do 7-cetocolesterol em camarão-rosa (*Penaeus brasiliensis* + *Penaeus paulensis*). São Paulo, 1999. 87p. [Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas Universidade de São Paulo].

OLIVEIRA H. C. F.; QUINTÃO, E. C. R. Colesterol na aterogênese. In: QUINTÃO, E.C.R. Colesterol na aterogênese. Rio de Janeiro: Quality Mark, 1992. cap.3, p. 47-55.

OSADA, K.; KODAMA, T.; CUI, L., YAMADA, K., SUGANO, M. Levels and formation of oxidized cholesterol in processed marine. *J. Agric. Food Chem.*, Columbus, v.41, p.1893-1998, 1993.

OSAWA, C.C.; FELICIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: Métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Quim.Nova*, v.28, n.4, p. 655-663, 2005.

OHSHIMA, T.; LI, N.; KOIZUMI, C. Oxidative decomposition of cholesterol in fish products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 70, n. 6, p. 595-599, 1993.

PENG, S., HU, B., MORIN, R. J. Angiotoxicity and atherogenicity of cholesterol oxides. *J. Clin. Lab. Anal.*, New York, v.5, p.144-152, 1991.

PENG, S.-K.; HU, B.; MORIN, R. J. Angiotoxicity and atherogenicity of cholesterol oxides. *J. Clin. Lab. Anal.*, New York, v.5, p.144-152, 1991.

PEREIRA, A. L. F., VIDAL, T. F., CONSTANT, P. B., Antioxidantes alimentares: importância química e bioquímica. *Nutrie. rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Braziliam Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, v. 34, n. 3, p. 231-247, 2009.

PETRAKIS, N. L.; GRUENKE, L. D.; CRAIG, J. L. Cholesterol and cholesterol epoxides in nipple aspirates of human breast fluid. *Cancer Res.*, Philadelphia, v.41, p.2563-2565, 1981.

PIE, J. E., SPAHIS, K., SEILLAN, C. Cholesterol oxidation in meat products during cooking and frozen storage. *J. Agric. Food Chem.*, Columbus, v.39, p.250-254, 1991.

PIE, J. E.; SPAHIS, K.; SEILLAN, C. Evaluation of oxidative degradation of cholesterol in food and food ingredients: Identification and quantification of cholesterol oxides. *J. Agric. Food Chem.*, Columbus, v.38, n.4, p.973-979, 1990.

PIMENTEL, F. A.; STRINGHETA, P. C. Produção de corantes de urucum em pó, por meio de precipitação ácida, a partir de extratos obtidos em diferentes soluções extratoras. *Revista Brasileira de corantes Naturais, Viçosa*, v. 3, p. 53-57, 1999.

PRESTON, H. D.; RICKAD, M. D. Extratction and chemistry of annatto. *Food Chemistry*. v.5, p. 47-56, 1980

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Quim. Nova*, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RAO, A.; RAO, L. Carotenoids and human health. *Pharmacol. Res.*, v. 55, n3, p. 207-216, 2007.

REBOUÇAS, M.C.; RODRIGUES, M.C.P.; CASTRO, R.J.S.; VIEIRA, J.M.M. Caracterização do concentrado proteico obtido a partir do resíduo de filetagem de tilápia do Nilo. *Ciências Agrárias, Londrina*, v. 33, n. 2, p. 697-704, 2012.

RIBEIRO, P.A.P.; ROSA, P.V.; VIEIRA, J.S.; GONÇALVES, A.C.S.; FREITAS, R.T.F. Perfil lipídico e composição química de tilápias nilóticas em diferentes condições de cultivo. *Ver. Bras. Saúde Prod. An. V. 12*, n. 1, p. 199-208.

RIOS, A. de O.; BORSARELLI, C.D., MERCADANTE, A.Z. Thermal degradation kinetics of bixin in an aqueous model system. *J. Agric. Food. Chem.*, v.53, n.6, p.2307-2311, 2005.

SALDANHA, T.; BRAGAGNOLO, N. Effects of grilling on cholesterol oxide formation and fatty acids alterations in fish. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*, v.30, n.2, p.385-390, 2010

SALDANHA, T.; SAWAYA, A.C.H.F.; EBERLIN, M.N.; BRAGAGNOLO, N. HPLC separation and determination of 12 cholesterol oxidation products in fish: comparative study of RI, UV, and APCI-MS detectors. *J. Agric. Food Chem.*, v. 54, n.12, p. 4107-13, 2006.

SAMPAIO, G. R. Ocorrência de óxidos de colesterol e análise do perfil lipídico em camarão salgado-seco. São Paulo, 2004. p93. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana Aplicada), Universidade de São Paulo.

SANDER, B. D. SMITH, D. E., ADDIS, P. B., PARK, S. W. Effects of prolonged and adverse storage conditions on levels of cholesterol oxidation products in dairy products. *J. Food Sci.*, Chicago, v.54, n.4, p. 874-879, 1989a.

SARANTINOS, J.; O'DEA, K.; SINCLAIR, A. J. Cholesterol oxides in Australian foods: identification and quantification. *Food Aust.*, North Sydney, v.45, n.10, p.485-490, 1993.

SCOTT, P. C; VIANNA, L. F; MATHIAS, M. A. Diagnóstico da cadeia aquícola para o desenvolvimento da atividade no Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: SEBRAE, 2002.

SEVANIAN, A.; PETERSON, A. R. The cytotoxic and mutagenic properties of cholesterol oxidation products. *Food Chem. Toxicol.*, Oxford, v.24, n.10/11, p.1103-1110, 1986.

SEVANIAN, A.; HOCHSTEIN, P. Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological systems. *Annual Reviews of Nutrition*, Palo Alto, v.5, p.365-390, 1985.

SMITH, L. L. Review of progress in sterol oxidation: 1987-1995. *Lipids*, Champaign, v.31, n.5, p.453-487, 1996.

SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A.S.; KOBLITZ M.G.B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Ciências Agrárias, Londrina*, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, F.M.A.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*, v. 22, n. 1, p.94-103, 1999.

SIMIC, M. G., JAVANOVIC, S. V. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. In: HO, C. T., OSAWA, T., HUANG, T. M., ROSEN, R. T. (Ed.). *Food phytochemicals for cancer prevention*. Washington: American Chemical Society, 1994. p 20-33. (ACS Symposium Series, n. 546).

SIMÕES, M.R.; RIBEIRO, C.F.A.; RIBEIRO, S.C.A.; PARK, K.J.; MURR, F.E.X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 3, p. 608-613, 2007.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev. Nutr.*, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUZA, C. M. M.; ROCHA E SILVA, H.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDAO, M. S.; CHAVES, M. H. Feóis totais e atividade antioxidante em cinco plantas medicinais. *Quím. Nova*, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, L.F. Ação antioxidante de compostos bioativos do urucum- Bixina. Porto Alegre, 2011. 85 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Departamento de Tecnologia dos Alimentos.

SPORER, A.; BRILL, D. R.; SCHAFFNER, C. P. Epoxycholesterols in secretions and tissue of normal, benign, and cancerous human prostate glands. *Urology*, New York, v.20, p.244-250, 1982.

TBCA - USP – Universidade do Estado de São Paulo. Disponível em www.usp.br/tabela; Acessado em 16/11/2011.

TEIXEIRA, E., MEINERT, E., BARBETTA, P. A. *Análise sensorial dos Alimentos*, Florianópolis: Ed da UFSC, 1987. 182p., 1987.

TOCCHINI, L.; MERCADANTE, A. Z.; Extração e determinação, por CLAE, de bixina e norbixina em coloríficos. *Ciência e tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 21, n. 3, p. 310-313, 2001.

VILA NOVA, C.M.; GODOY, H.T.; ALDRIGUE, M.L. Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídeos totais da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 3, p. 430-436, 2005.

WING-KEONG, Ng.; BAHURMIZ, O.M. The impact of dietary oil source and frozen storage on the physical, chemical and sensorial quality of fillets from market-size red hybrid tilapia (*Oreochromis sp.*). [S1]., *Food Chemistry*, v. 113, p. 1041-1048, 2009.

ZUNIN, P.; BOGGIA, R.; EVANGELISTI, F. Identification and qualification of cholesterol oxidation and products in canned tuna. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 78, n. 10, p. 1037-1040, 2001.

ZUNIN, P.; EVANGELISTI, F.; CABONI, M. F.; PENAZZI, G.; LERCKER, G.; TISCORNIA, E. Cholesterol oxidation in baked foods containing fresh and powdered eggs. J. Food Sci., Chicago, v.60, n.5, p.913-916, 1995.

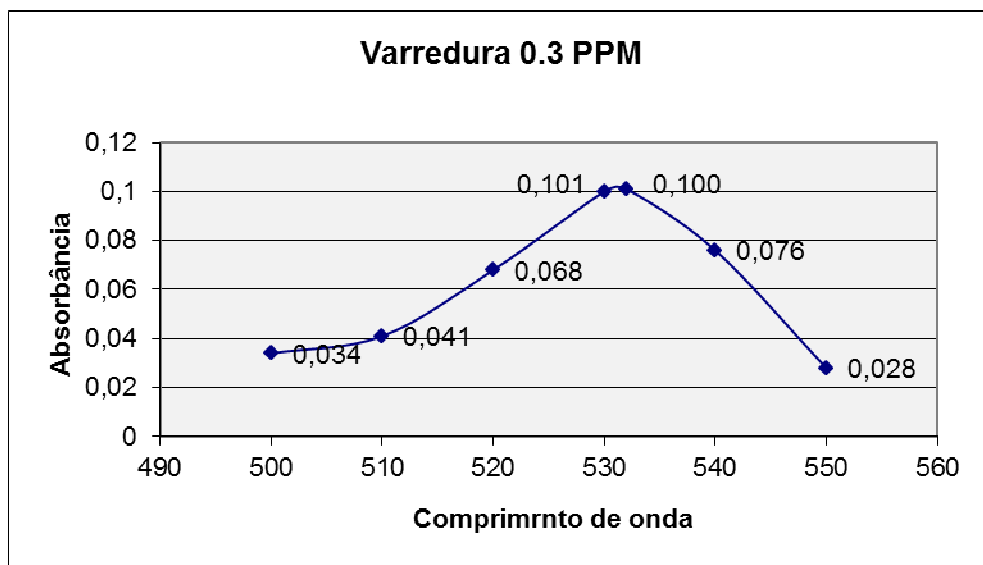
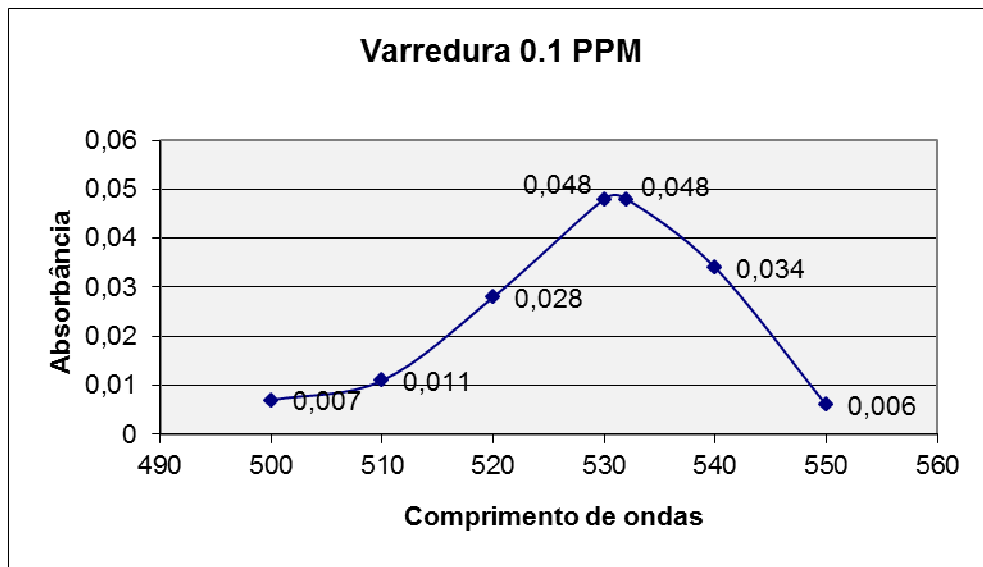
ANEXO

Curva de calibração e espectro de varredura

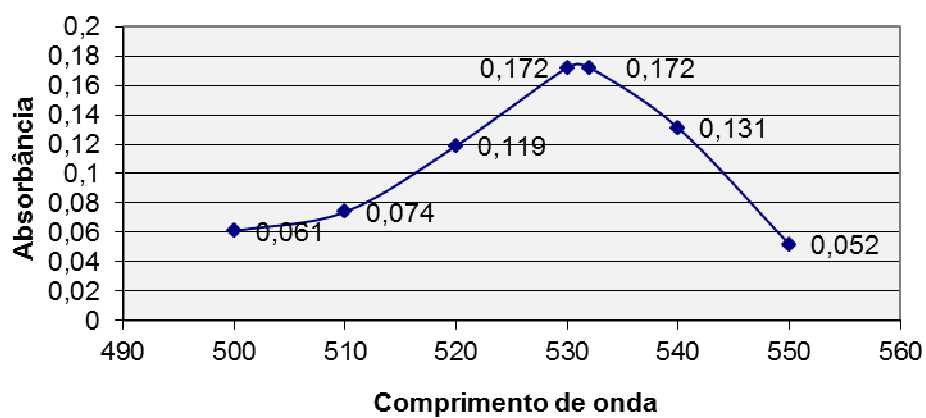
A partir de reagente TEP, anteriormente descrito, foram preparadas 12 soluções padrão com concentrações de 0,1, 0,3, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 e 5,0 ppm para realização de varredura entre os espectros 500, 510, 520, 530, 532, 540, 550 nm, com objetivo de verificar o melhor comprimento de ondas para absorção do MDA, e a partir dos dados obtido na varredura construir curva de calibração para este experimento.

A varredura foi realizada em triplicada com uma repetição para cada uma das concentrações descritas e a curva de calibração foi feita a partir destes resultados

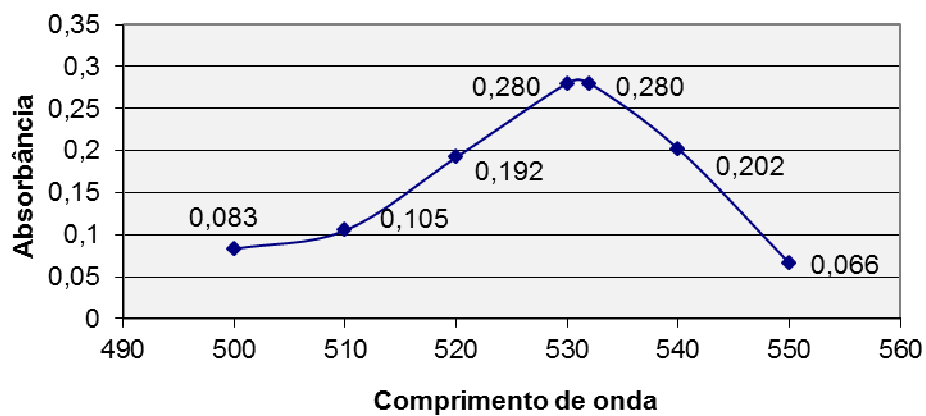
Varredura



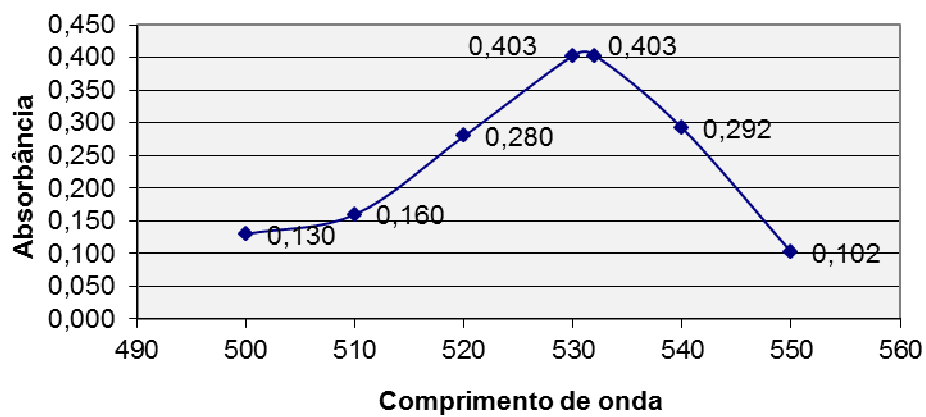
Varredura 0.5 PPM



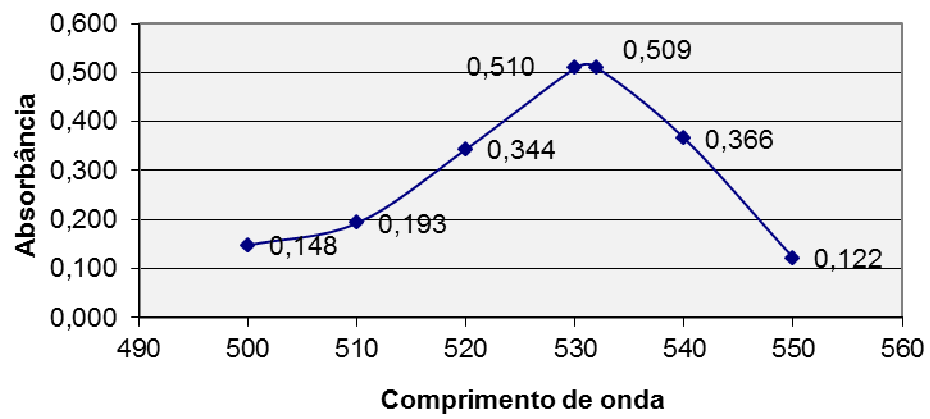
Varredura 1.0 PPM



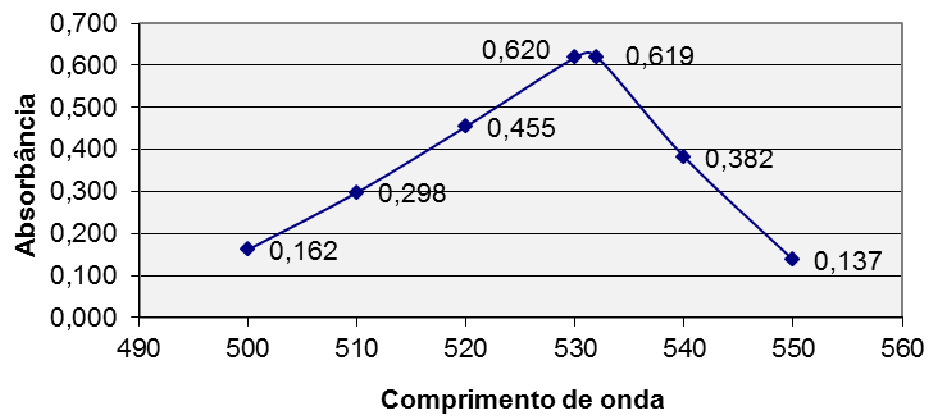
Varredura 1.5 PPM



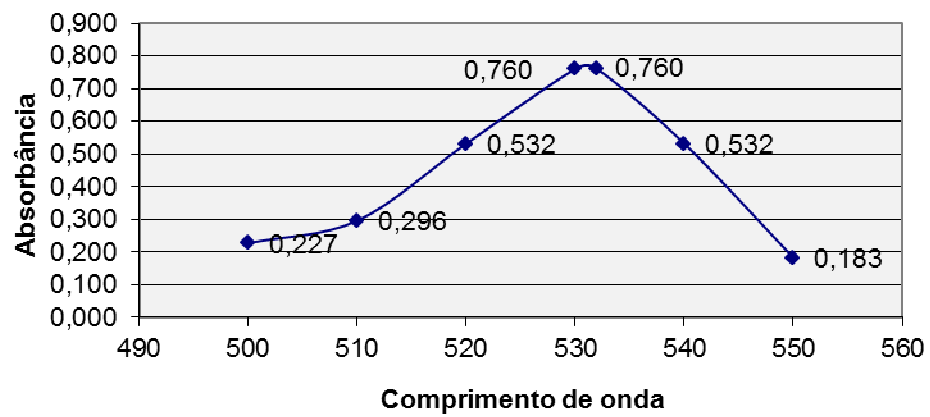
Varredura 2.0 PPM



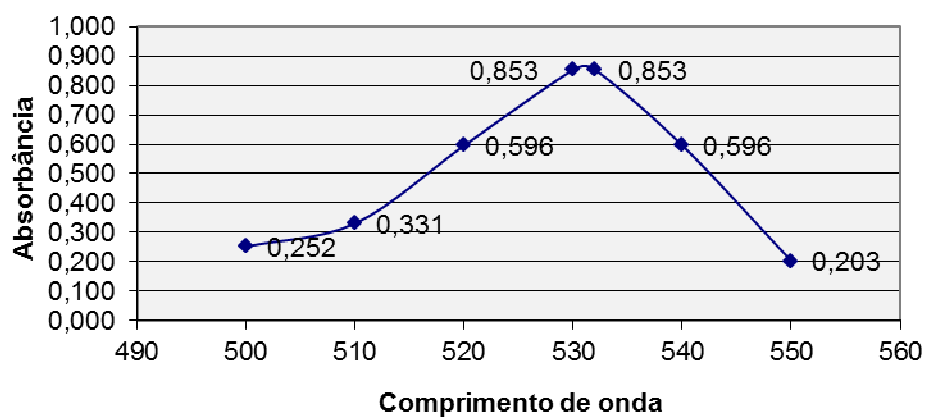
Varredura 2.5 PPM



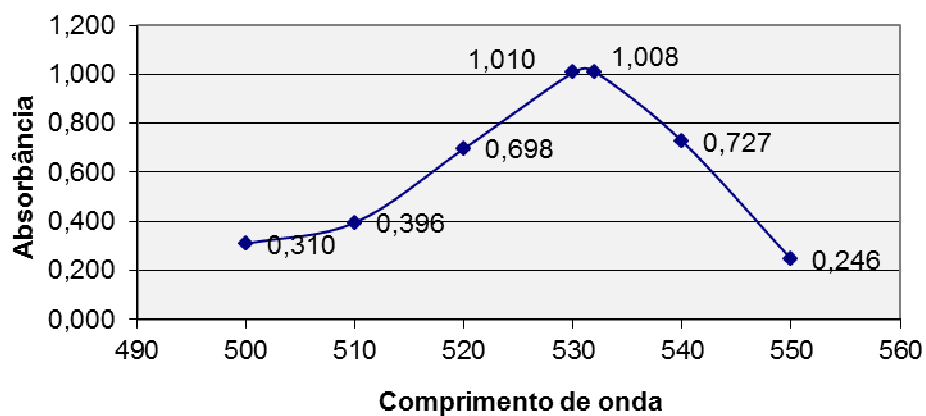
Varredura 3.0 PPM



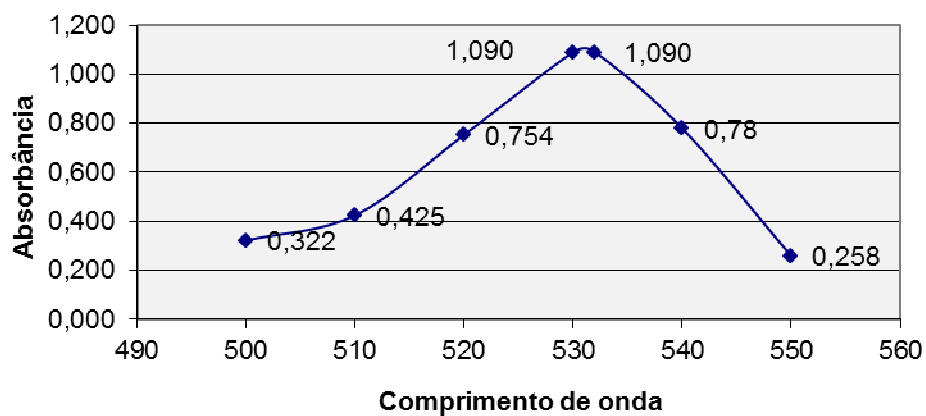
Varredura 3.5 PPM

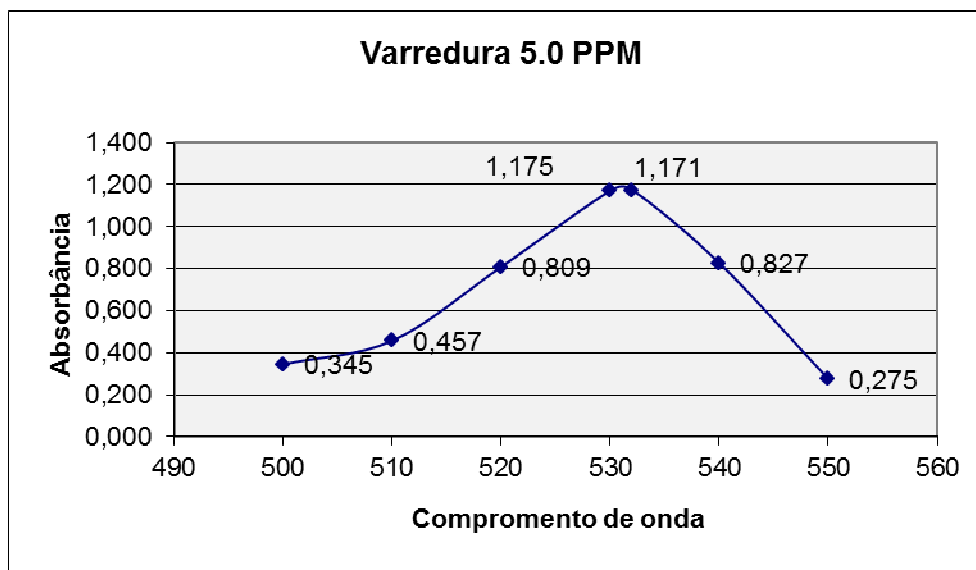


Varredura 4.0 PPM



Varredura 4.5 PPM





Curva de calibração

Para confecção da curva de foram utilizados os valores médios obtidos em 532 nm para cada concentração conforme segue:

PPM	0,1	0,3	0,5	1,0	1,5	2,0
Absorb.	0,048	0,101	0,172	0,280	0,403	0,510

PPM	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
Absorb.	0,620	0,760	0,853	1,010	1,090	1,175

