



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



CONTRIBUIÇÕES DA *Moringa oleifera* PARA A PRODUÇÃO ANIMAL: ABORDAGENS BIBLIOMÉTRICAS E AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS

GUSTAVO DANIEL VEGA BRITEZ

Engenheiro Agrônomo

Dourados - MS

2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



CONTRIBUIÇÕES DA *Moringa oleifera* PARA A PRODUÇÃO ANIMAL: ABORDAGENS BIBLIOMÉTRICAS E AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS

GUSTAVO DANIEL VEGA BRITEZ

ORIENTADOR: Prof. Dr. FERNANDO MIRANDA DE VARGAS JUNIOR

CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. TATIANE FERNANDES

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia

Dourados - MS

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

B862c Britez, Gustavo Daniel Vega

CONTRIBUIÇÕES DA Moringa oleifera PARA A PRODUÇÃO ANIMAL:
ABORDAGENS BIBLIOMÉTRICAS E AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS
[recurso eletrônico] / Gustavo Daniel Vega Britez. -- 2026.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior.

Coorientadora: Profª. Drª. Tatiane Fernandes.

Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2025.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Moringa oleifera. 2. ovinos. 3. análise bibliométrica. 4. fermentação ruminal. 5.
antioxidantes naturais. I. Vargas Junior, Prof. Dr. Fernando Miranda De . II. Fernandes,
Profª. Drª. Tatiane. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

Faculdade de Ciências Agrárias

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

CONTRIBUIÇÕES DA *Moringa oleifera* PARA A PRODUÇÃO ANIMAL: ABORDAGENS BIBLIOMÉTRICAS E AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS

Gustavo Daniel Vega Brites

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 16 de dezembro de 2025, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Documento assinado digitalmente
 **TATIANE FERNANDES**
Data: 23/01/2026 17:00:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Tatiane Fernandes
Co-orientadora - Virginia Polytechnic
Institute and State University

Prof^a. Dr^a. Yury Tatiana Granja Salcedo
AGROSAVIA – Corporación
Colombiana de Investigación
Agropecuaria

Documento assinado digitalmente
 **RENIUS DE OLIVEIRA MELLO**
Data: 17/12/2025 15:07:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Renius de Oliveira Mello
Universidade Federal de Santa Maria

Documento assinado digitalmente
 **ALEXANDRE RODRIGO MENDES FERNANDES**
Data: 17/12/2025 08:39:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Mendes
Fernandes
Universidade Federal da Grande
Dourados

Documento assinado digitalmente
 **FERNANDO MIRANDA DE VARGAS JUNIOR**
Data: 23/01/2026 17:19:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior
Orientador - Universidade Federal da Grande Dourados

BIOGRAFIA DO AUTOR

GUSTAVO DANIEL VEGA BRITEZ, filho de Fabian Vega Noguera e Feliciano Britez de Vega, nasceu na cidade de Yby Yaú, Departamento de Concepción, Paraguai em 20 de fevereiro de 1986. Possui Graduação em Agronomia pela Universidad Nacional de Asunción (2009), e mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal da Grande Dourados (2016). Em fevereiro de 2022, iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (FCA - UFGD), sob orientação do professor Fernando Miranda de Vargas desenvolvendo pesquisa na área de ovinocultura, avaliando o efeito do extrato aquoso de *Moringa oleifera* no consumo e digestibilidade dos nutrientes e fermentação ruminal, além dos efeitos desse extrato sobre os parâmetros de qualidades do hambúrguer de carne de ovino. Submetendo-se à defesa da Tese no dia 16 de dezembro de 2025. Atualmente é docente e pesquisador com dedicação exclusiva na *Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción*, em Pedro Juan Caballero, Paraguai.

A colheita vem para quem
tem a paciência de cultivar.

Rafael Nolêto

A minha FAMÍLIA pelo apoio de SEMPRE.

A minha esposa CLAUDIA

Aos meus filhos, CLAUDIO GUSTAVO e BRENDA ALICE

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter-me dado muita saúde e tranquilidade durante toda esta fase.

À UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS, pela GRANDE oportunidade de realização de meu curso de DOUTORADO.

Ao Professor Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior pela orientação, confiança, e paciência durante o nosso convívio.

À Dra. Tatiane Fernandes pela coorientação, oportunidade, disposição e, sobretudo, pelas dicas durante o processo de análise de dados e redação final.

Ao funcionário administrativo, do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Ronaldo Pasquim, pela paciência e compreensão.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pelo financiamento do experimento.

À Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Agrarias pela concessão de licença.

Às Professoras Elenice Souza dos Reis Goes, Ângela Dulce Cavenaghi Altemio e Claudia Cardoso, pelo aprendizado e pelas análises laboratoriais.

À Técnica de Laboratório Adriana Sathie Ozaki Hirata pelo carinho, confiança e ajuda inestimável.

Aos Técnicos de Laboratórios, Thiago, Phaena, Lígia e Kamila Mônico.

Ao Técnico de Campo, José Osmar, pelo apoio incondicional na fase de campo.

A Marcio Rodrigues de Souza, pelas ajudas incondicionais.

Aos colaboradores de campo, Celé, Sasa e Irlando, pela predisposição de sempre.

Aos seguranças (vigias), Claudio, Junior, Flauto e Cristiano, pela amizade.

Aos colegas, Aylpy Renan, Italo, Yara, Carolina, Rodrigo e Aristides pelos tantos momentos de apoio.

Aos alunos de graduação (iniciação científica), estagiários e bolsistas que contribuíram nas diferentes etapas deste trabalho, em especial, Bianca Bruna Nascimento Ribeiro, Ana Beatriz dos Santos, Nicolly da Silva Araujo, Clara Rocha Cuzzuol, Luana Galdino, Luis Felipe, Karen Lohayna, Tais, Nájela, Kleber e Thamiris.

Ao funcionário da Fazenda Experimental da UFGD pelo auxílio de sempre.

AGRADEÇO.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
Capítulo 2: Panorama científico do uso de MO em pequenos ruminantes	4
2.1 Evolução e estrutura da produção científica	4
2.2 Eixos temáticos e lacunas de pesquisa	5
2.3 Autores, periódicos e instituições de destaque	5
Capítulo 3: Efeitos do extrato aquoso de MO sobre parâmetros nutricionais e fermentativos em ovinos	6
3.1 Compostos bioativos de MO e potencial modulador ruminal	6
3.2 Consumo e digestibilidade aparente de nutrientes	6
3.3 Fermentação ruminal e parâmetros metabólicos	7
Capítulo 4: Aplicação tecnológica do extrato de MO em produtos cárneos	8
4.1 Oxidação lipídica e uso de antioxidantes naturais em produtos cárneos	8
4.2 Efeitos de MO sobre a estabilidade oxidativa e qualidade de produtos cárneos ..	8
4.3 Atributos sensoriais, cor e características de cozimento	9
5. OBJETIVOS	10
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
CAPÍTULO 2 – ARTIGO 1.....	20
Bibliometric Insights into <i>Moringa oleifera</i> Applications in Small Ruminant Production Systems	20
1. Introduction	21
2. Materials and Methods	22
3. Results	24
3.1. Research Trend Analysis	24
3.2. <i>Country Participation in Research on the Use of MO in Sheep and Goats</i>	25
3.3. <i>Participation of Institutions and Affiliations in Research on the Use of MO in Sheep and Goats</i>	26
3.4. <i>Journal Participation in Research on the Use of MO in Sheep and Goats</i>	27
3.5. Authorship in Research on the Use of MO in Sheep and Goats	31
3.6. <i>Author Co-Citation Network in Research on the Use of MO in Sheep and Goats</i>	34
3.7. <i>Co-Occurrence Analysis of Author Keywords on the Use of MO in Sheep and Goat Production</i>	35
4. Discussion.....	37

5. Conclusions	39
References	40
CAPÍTULO 3 – ARTIGO 2.....	47
Extrato aquoso de folhas de <i>Moringa oleifera</i> como aditivo dietético para ovinos Pantaneiros: consumo, digestibilidade e fermentação ruminal	47
1. Introdução	48
2. Materiais e métodos	51
2.1 Preparação do extrato aquoso de <i>Moringa oleifera</i>	51
2.2 Composição fitoquímica do EAMO	52
2.3 Quantificação dos compostos fenólicos, flavonoides e taninos	53
2.4 Potencial antioxidante	53
2.5 Animais, dieta e manejo	54
2.6 Avaliação do consumo e digestibilidade	57
2.7 Coleta e análise de urina.....	57
2.8 Coleta e análise do soro sanguíneo	57
2.9 Coleta e análise do fluido ruminal	58
2.10 Análise estatística	58
3. Resultados	59
3.1 Consumo de nutrientes	59
3.2 Digestibilidade aparente dos nutrientes.....	60
3.3 Parâmetros sanguíneos e urinários.....	60
3.4 Parâmetros de fermentação ruminal	60
4. DISCUSSÃO	65
4.1. Consumo de nutrientes	65
4.2 Digestibilidade aparente dos nutrientes.....	65
4.3 Parâmetros sanguíneos e urinários.....	66
4.4 Parâmetros de fermentação ruminal	67
5. Conclusão	68
6. Referências.....	69
CAPÍTULO 4 – ARTIGO 3.....	74
EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE <i>Moringa oleifera</i> SOBRE O HAMBÚRGUER DE CARNE OVINA: CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS, SENSORIAL E AÇÃO ANTIOXIDANTE	74
1. Introdução	75
2. Materiais e Métodos	77

2.1 Preparação do EAMO	77
2.2 Composição fitoquímica do EAMO.....	78
2.2.1 Quantificação dos compostos fenólicos, flavonoides e taninos	78
2.2.2 Potencial antioxidante	78
2.3 Formulação e preparo dos hambúrgueres.....	78
2.4 Avaliação de hambúrgueres crus	79
2.4.1 Reagentes químicos.....	79
2.4.2 Cor	79
2.4.3 Composição centesimal	79
2.4.4 Capacidade antioxidante - ABTS	79
2.4.5 Capacidade antioxidante - DPPH.....	80
2.4.6 Oxidação lipídica (TBARS).....	80
2.4.7 pH	80
2.5 Avaliação de hambúrgueres grelhados	80
2.5.1 Rendimento de cozimento e encolhimento dimensional	80
2.5.2 Força de cisalhamento	80
2.6 Análise sensorial	81
2.7 Análise estatística	81
3. Resultados	82
3.1 Caracterização do EAMO.....	82
3.2 Composição centesimal dos hamburgueres.....	83
3.3 Capacidade antioxidante, oxidação lipídica e pH dos hamburgueres	84
3.4 Cor de hambúrgueres crus.....	86
3.5 Cor de hamburger grelhado	87
3.6 Parâmetros tecnológicos e força de cisalhamento	88
3.7 Análise sensorial	89
4. Discussão	90
4.1 Composição centesimal	90
4.2 Características antioxidantes, oxidação lipídica e pH.....	91
4.3 Cor de hambúrgueres crus.....	94
4.4 Cor de hamburger grelhado	95
4.5 Características de grelhado	95
4.6 Análise sensorial	96
5. Conclusão	97

6. Referências.....	98
CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	104

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2 – ARTIGO 1	20
Figure 1. PRISMA flow diagram for bibliographic search and screening.....	23
Figure 2. Temporal evolution of annual scientific production and total citation counts related to the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goat research between 2000 and 2025, based on bibliometric analysis of publications indexed in Scopus.....	25
Figure 3. International collaboration network among countries with at least five publications on the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goat research. Node size represents publication volume, line thickness indicates collaboration strength between countries, and colors denote collaboration clusters identified by VOSviewer.	26
Figure 4. Citation analysis of journals contributing to research on the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goat studies, generated using VOSviewer software, considering journals with a minimum of two publications, according to (a) total number of documents, (b) total citations, (c) total link strength, and (d) temporal evolution of journal publications. Node size represents journal relevance within the network, colors indicate citation clusters, and line thickness reflects the strength of citation relationships among journals.	29
Figure 5. Bibliographic coupling network of journals publishing research on the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goat production systems. Each node represents a journal, node size reflects citation impact, colors indicate thematic clusters identified by VOSviewer, and line thickness represents the strength of bibliographic coupling between journals based on shared references. Journals positioned closer together exhibit greater thematic similarity and stronger intellectual connectivity within the field.	31
Figure 6. Temporal evolution of the scientific production of the most productive authors on the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goats between 2000 and 2025, generated using the Bibliometrix package (Biblioshiny interface) in R software. Circle size represents annual publication volume, while color intensity reflects the temporal distribution of scientific productivity among authors.	31
Figure 7. Co-authorship network of authors with a minimum of two publications on the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goat research, generated using VOSviewer software. The network visualization illustrates collaborative relationships among authors based on average annual scientific production between 2000 and 2025. Node size represents author productivity, colors indicate collaboration clusters, and line thickness reflects the strength of co-authorship links between researchers (a, b).	33
Figure 8. Author co-citation network considering a minimum threshold of 30 citations in research on the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and	

goats, generated using VOSviewer software. Node size represents the citation relevance of each author, colors indicate co-citation clusters, and line thickness reflects the strength of co-citation relationships between authors within the scientific network.34

Figure 9. Network visualization of author keywords with a minimum threshold of six co-occurrences (a) and overlay visualization with temporal trend analysis (b) in publications related to the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research, generated using VOSviewer software. Node size represents keyword occurrence frequency, colors indicate thematic clusters or average publication year, and line thickness reflects the strength of co-occurrence relationships among keywords within the scientific literature.35

CAPÍTULO 4 – ARTIGO 374

Figura 1. Biplot dos indivíduos e de fatores das variáveis (PCA). Cor representa os níveis de EAMO (EAMO; 0, 2, 4, ou 6%), dias (Day; 0, 30, 60, 90), escala de aparência (Apa), cor, sabor (Sab), textura (Tex), suculência (Suc), impressão global (Igl) e intensão de compra (Ic) e características do avaliador (faixa etária (FE), frequência de consumo de hambúrguer (CH), frequência de consumo de carne ovina (CCO).90

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – ARTIGO 1	20
Table 1. The 15 leading countries with the highest number of publications on the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goat research.	25
Table 2. Representation of the leading institutions with at least four original research articles published on the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goat research.....	26
Table 3. Representation of the 15 leading journals (minimum of three publications) publishing original research articles on the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goat research.	28
Table 4. The 20 most cited authors in research on the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goat studies.	32
Table 5. Top 15 most cited articles on the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goat research.....	33
Table 6. Main keywords, clusters, and research themes related to the use of <i>Moringa oleifera</i> in sheep and goat studies.	36
CAPÍTULO 3 – ARTIGO 2	47
Tabela 1. Compostos bioativos de EAMO (média $\pm$ desvio padrão para TCF, TF, TT e DPPH).....	52
Tabela 2. Proporção dos ingredientes e composição química da dieta.....	56
Tabela 3. Consumo e digestibilidade de nutrientes das dietas com diferentes níveis de EAMO	62
Tabela 4. Parâmetros sanguíneos e urinários de borregos castrados recebendo diferentes concentração dietética de EAMO.	63
Tabela 5. Fermentação ruminal de borregos castrados recebendo diferentes concentração dietética de EAMO.	64
CAPÍTULO 4 – ARTIGO 3	74
Tabela 1. Compostos bioativos de extrato aquoso de <i>Moringa oleifera</i> - EAMO (média $\pm$ desvio padrão para TCF, TF, TT e DPPH)	82
Tabela 2. Composição centesimal de hambúrguer de carne ovina cru formulado com diferentes concentrações de EAMO durante o armazenamento a -18°C.....	84
Tabela 3. Características oxidativas e pH de hambúrguer de carne ovina cru formulado com diferentes concentrações de EAMO durante o armazenamento a -18°C.....	85
Tabela 4. Cor de hambúrguer de carne ovina cru formulado com diferentes concentrações de EAMO durante o armazenamento a -18°C.	86

Tabela 5. Cor de hambúrguer de carne ovina grelhado formulado com diferentes concentrações de EAMO durante o armazenamento a -18°C.	88
Tabela 6. Características de cozimento e textura de hambúrguer de carne ovina grelhado formulado com diferentes concentrações de EAMO durante o armazenamento a -18°C.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS

AGV: ácidos graxos voláteis
AGCC: ácidos graxos de cadeias curtas
AOAC: Association of Official Analytical Chemists
ALT: alanina aminotransferase
AST: atividades de aspartato aminotransferase
BHA: butylated hydroxyanisole
BHT: butylated hydroxytoluene
CMS: consumo de matéria seca
D: dia de armazenamento
DPPH: 1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EAMO: extrato aquoso de *Moringa oleifera*
EE: extrato etéreo
EPM: erro padrão da média
MO: *Moringa oleifera*
MORG: matéria orgânica
FDA: fibra detergente ácido
FDN: fibra detergente neutro
MCP: mean citations per publication
MS: matéria seca
PCA: principal componentes análises
PB: proteína bruta
TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TC: total citations
TCP: teor de compostos fenólicos
TF: teor de flavonoides
TLS: total link strength
TP: total publications
TT: teor de taninos

CONTRIBUIÇÕES DA *Moringa oleifera* PARA A PRODUÇÃO ANIMAL: ABORDAGENS BIBLIOMÉTRICAS E AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS

RESUMO - Esta tese investigou o uso de *Moringa oleifera* (MO) na produção de ovinos por meio de três capítulos complementares. O Capítulo 2 consistiu em uma análise bibliométrica da produção científica sobre MO em ovinos e caprinos (2000-2025) utilizando a base de dados Scopus. Foram analisados 166 artigos, provenientes de 37 países, 677 autores e 93 periódicos. Os resultados revelaram crescimento expressivo das publicações após 2020, com concentração geográfica na Índia (44 artigos), Egito (32) e México (19). Kholif A.E. e Gouda G.A. (National Research Centre, Egito) foram os autores mais citados. A análise de coocorrência de palavras-chave evidenciou eixos temáticos em digestibilidade, desempenho produtivo e fermentação ruminal, com expansão recente para o campo da biologia reprodutiva e mitigação de metano. Lacunas identificadas incluíram falta de padronização metodológica e escassez de estudos *in vivo* em ovinos. O Capítulo 3 avaliou os efeitos do extrato aquoso de folhas de MO (EAMO) em pó (25, 50, 75 e 100 mg/kg de concentrado) e monensina (30 mg/kg) e uma dieta basal sobre consumo, digestibilidade e fermentação ruminal em ovinos Pantaneiros. O EAMO apresentou 234,55 mg AGE/g de fenólicos, 56,37 mg RE/g de flavonoides e 24,40 mg ATE/g de taninos. O consumo de matéria seca (1,21-1,30 kg/d) e os coeficientes de digestibilidade não diferiram entre tratamentos. O pH ruminal (6,40-6,59) e N-NH₃ (17,2-20,3 mg/dL) mantiveram-se dentro da normalidade. As proporções de AGCC não foram alteradas. Os parâmetros sanguíneos (glicose, ureia, AST, ALT) permaneceram nos intervalos de referência. A creatinina urinária foi menor na monensina (0,48 mg/dL) em relação aos tratamentos com EAMO (0,68-0,84 mg/dL; P=0,05), indicando que a monensina pode aumentar a depuração renal do metabólito. O Capítulo 4 avaliou a incorporação do EAMO (2%, 4% e 6%) e um controle com ácido ascórbico em hambúrgueres de carne ovina armazenados por 90 dias a -18°C. O EAMO aumentou linearmente o teor de minerais (P<0,01). A capacidade antioxidante (DPPH e ABTS) foi superior no controle com ácido ascórbico (P<0,01). O comportamento dos TBARS foi bifásico: no dia 0, o EAMO elevou a oxidação lipídica; ao dia 90, o EAMO 2% apresentou os menores valores (0,11 mg MDA/kg). O pH reduziu linearmente com o aumento do EAMO (P<0,01). A luminosidade (L) foi reduzida progressivamente, e o rendimento de grelhado diminuiu com o incremento do EAMO. A análise sensorial (PCA) associou concentrações mais altas de EAMO (4% e 6%) a menor aceitação pelos consumidores. Conclui-se que o EAMO apresenta potencial como aditivo natural, mas a concentração de 2% mostrou o perfil mais equilibrado entre proteção antioxidante tardia e aceitação sensorial.

Palavras-chave: *Moringa oleifera*; ovinos; análise bibliométrica; fermentação ruminal; antioxidantes naturais.

CONTRIBUTIONS OF *Moringa oleifera* TO ANIMAL PRODUCTION: BIBLIOMETRIC APPROACHES AND EXPERIMENTAL EVALUATION IN SHEEP

ABSTRACT - This thesis investigated the use of *Moringa oleifera* (MO) in sheep production through three complementary chapters. Chapter 2 consisted of a bibliometric analysis of the scientific output on MO in sheep and goats (2000–2025) using the Scopus database. A total of 166 articles from 37 countries, 677 authors and 93 journals were analyzed. The results revealed substantial growth in publications after 2020, with geographic concentration in India (44 articles), Egypt (32) and Mexico (19). Kholif A.E. and Gouda G.A. (National Research Centre, Egypt) were the most cited authors. Keyword co-occurrence analysis revealed thematic clusters centered on digestibility, productive performance and ruminal fermentation, with recent expansion into the fields of reproductive biology and methane mitigation. Identified gaps included lack of methodological standardization and scarcity of *in vivo* studies in sheep. Chapter 3 evaluated the effects of powdered aqueous extract of MO leaves (EAMO) at 25, 50, 75 and 100 mg/kg of concentrate, monensin (30 mg/kg) and a basal diet on intake, digestibility and ruminal fermentation in Pantaneiro sheep. The EAMO contained 234.55 mg GAE/g of phenolics, 56.37 mg RE/g of flavonoids and 24.40 mg TAE/g of tannins. Dry matter intake (1.21–1.30 kg/d) and digestibility coefficients did not differ among treatments. Ruminal pH (6.40–6.59) and NH₃-N (17.2–20.3 mg/dL) remained within normal ranges. Volatile fatty acid molar proportions were not altered. Blood parameters (glucose, urea, AST, ALT) remained within reference intervals. Urinary creatinine was lower in the monensin treatment (0.48 mg/dL) compared with EAMO treatments (0.68–0.84 mg/dL; $P=0.05$), suggesting that monensin may enhance renal clearance of the metabolite. Chapter 4 evaluated the incorporation of EAMO (2%, 4% and 6%) and an ascorbic acid control in sheep meat burgers stored for 90 days at -18°C . EAMO linearly increased mineral content ($P<0.01$). Antioxidant capacity (DPPH and ABTS) was higher in the ascorbic acid control ($P<0.01$). TBARS values exhibited a biphasic pattern: at day 0, EAMO increased lipid oxidation; at day 90, EAMO 2% presented the lowest values (0.11 mg MDA/kg). pH decreased linearly with increasing EAMO levels ($P<0.01$). Lightness (L^*) was progressively reduced, and cooking yield decreased with increasing EAMO concentration. Sensory analysis (PCA) associated higher EAMO concentrations (4% and 6%) with lower consumer acceptance. It is concluded that EAMO shows potential as a natural additive; however, the 2% concentration exhibited the most balanced profile between delayed antioxidant protection and sensory acceptability.

Keywords: *Moringa oleifera*; sheep; bibliometric analysis; rumen fermentation; natural antioxidants.

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por sistemas de produção animal mais eficientes, sustentáveis e alinhados às exigências do mercado consumidor tem estimulado o desenvolvimento de estratégias nutricionais capazes de reduzir a dependência de aditivos sintéticos e, simultaneamente, melhorar o desempenho produtivo e a qualidade dos alimentos de origem animal. Nesse contexto, compostos bioativos de origem vegetal têm recebido atenção crescente devido à sua capacidade de atuar sobre diferentes processos fisiológicos e metabólicos, especialmente na modulação microbiana, na atividade antioxidante e na preservação da qualidade dos produtos cárneos. Entre as espécies vegetais de maior interesse científico destaca-se *Moringa oleifera* (MO), planta reconhecida pela elevada densidade nutricional e pela presença de flavonoides, compostos fenólicos, taninos e outros metabólitos secundários com propriedades antioxidantes e antimicrobianas (Anwar et al., 2007; Falowo et al., 2018).

Embora o potencial multifuncional de MO seja amplamente reconhecido, sua aplicação na produção animal ainda apresenta lacunas importantes relacionadas à padronização das formas de utilização, aos mecanismos de ação dos compostos bioativos e à consolidação das evidências científicas disponíveis. Além disso, muitos estudos permanecem fragmentados entre diferentes áreas do conhecimento, dificultando a compreensão integrada dos efeitos da planta sobre a nutrição animal, a fermentação ruminal e a estabilidade oxidativa de produtos cárneos. Essa limitação reforça a necessidade de abordagens complementares que permitam integrar informações científicas, validar efeitos biológicos em sistemas produtivos e avaliar aplicações tecnológicas relacionadas à qualidade dos alimentos.

Diante desse cenário, o Capítulo 2 foi desenvolvido com o objetivo de analisar as tendências científicas, estruturas de colaboração e lacunas de pesquisa relacionadas ao uso de MO na produção de ovinos e caprinos por meio de uma abordagem bibliométrica baseada na base de dados Scopus. O crescimento expressivo das publicações após 2020 demonstra que o interesse científico pela

temática se intensificou nos últimos anos, especialmente em áreas relacionadas à nutrição, desempenho produtivo, qualidade da carne e mitigação de metano entérico. A análise também evidenciou forte concentração das pesquisas em determinados grupos de autores, instituições e países, com destaque para Índia, Egito e México, além da predominância de estudos voltados à utilização da planta como suplemento nutricional e modulador funcional da fermentação ruminal (Kholif et al., 2018; Kholif e Olafadehan, 2021). Apesar desse avanço, persistem lacunas importantes relacionadas à padronização dos métodos de extração, definição de dosagens e avaliação dos impactos econômicos da aplicação da planta em sistemas produtivos.

A partir das lacunas identificadas no mapeamento científico, o Capítulo 3 concentrou-se na avaliação dos efeitos de diferentes concentrações de extrato aquoso de *Moringa oleifera* (EAMO) como aditivo dietético sobre o consumo, a digestibilidade aparente da dieta e os parâmetros de fermentação ruminal em ovinos Pantaneiros. O interesse por compostos naturais capazes de substituir moduladores sintéticos, como a monensina sódica, tem aumentado devido às preocupações relacionadas à resistência antimicrobiana e às exigências do mercado consumidor por sistemas produtivos menos dependentes de aditivos químicos (Appuhamy et al., 2013; Carresi et al., 2024). Nesse contexto, os metabólitos secundários presentes em MO apresentam potencial para interferir seletivamente sobre populações microbianas ruminais, alterando a produção de ácidos graxos voláteis, a degradação proteica e a emissão de metano entérico.

As folhas de MO são ricas em compostos fenólicos, flavonoides e taninos (Leone et al., 2015). Estudos recentes demonstram que esses compostos estão associados aos efeitos da MO sobre a fermentação ruminal (Grijalva-Hinojos et al., 2025; Ammar et al., 2024), modulando a microbiota ruminal e os parâmetros fermentativos (Akanmu et al., 2025). Evidências *in vitro* e *in vivo* sugerem melhora da digestibilidade, maior eficiência de utilização de nutrientes e redução da produção de gases durante a fermentação ruminal, embora a maioria dos estudos disponíveis ainda esteja concentrada em caprinos e em condições experimentais específicas. Dessa forma, o Capítulo 3 buscou consolidar e discutir criticamente os avanços recentes relacionados ao uso de EAMO como aditivos funcionais na alimentação de

pequenos ruminantes, enfatizando seus mecanismos de ação, limitações metodológicas e perspectivas de aplicação prática.

Além da aplicação na nutrição animal, o uso de compostos bioativos de origem vegetal também tem sido investigado na preservação da qualidade de produtos cárneos. A oxidação lipídica e proteica representa um dos principais fatores associados à perda de qualidade tecnológica, sensorial e microbiológica da carne e de produtos processados, afetando cor, sabor, textura e estabilidade durante o armazenamento (Amaral et al., 2018; Domínguez et al., 2019). Recentemente, preocupações relacionadas aos potenciais efeitos tóxicos do uso excessivo de antioxidantes sintéticos têm estimulado a busca por alternativas naturais capazes de exercer funções antioxidantes e antimicrobianas sem comprometer a segurança alimentar (Khezerlou et al., 2022; Esazadeh et al., 2024).

Nesse contexto, o Capítulo 4 teve como objetivo avaliar os efeitos da incorporação do EAMO em diferentes concentrações (2%, 4% e 6%) sobre a composição centesimal, a capacidade antioxidante, a oxidação lipídica (TBARS), o pH, os atributos de cor, as características de cozimento e a aceitação sensorial de hambúrgueres de carne ovina armazenados sob congelamento (-18 °C) por 90 dias, comparando-os a um controle formulado com ácido ascórbico (0,1%). Estudos prévios demonstram que extratos e pós foliares da planta apresentam capacidade de retardar a oxidação lipídica, reduzir o crescimento microbiano e preservar características físico-químicas e sensoriais em diferentes matrizes cárneas (Muthukumar et al., 2014; Elhadi et al., 2017). Além disso, revisões recentes reforçam o potencial dos antioxidantes vegetais na substituição parcial ou total de antioxidantes sintéticos tradicionalmente utilizados pela indústria de alimentos (Hadidi et al., 2022; Mostafa et al., 2025). Assim, o Capítulo 4 amplia a discussão sobre o uso de *Moringa oleifera* para além da nutrição animal, explorando sua aplicação tecnológica na conservação de alimentos e sua contribuição para o desenvolvimento de produtos cárneos com maior estabilidade oxidativa.

De forma integrada, os três capítulos desta tese abordam diferentes dimensões científicas e aplicadas relacionadas ao uso de MO na produção animal e na ciência de alimentos. O Capítulo 2 identifica tendências, estruturas científicas e lacunas de pesquisa; o Capítulo 3 discute os mecanismos e o potencial funcional da

planta como modulador ruminal; e o Capítulo 4 explora sua aplicação como fonte natural de antioxidantes para produtos cárneos. Em conjunto, os capítulos demonstram que MO possui potencial multifuncional relevante para sistemas agroalimentares mais sustentáveis, embora ainda sejam necessários avanços relacionados à padronização metodológica, definição de dosagens e validação dos efeitos em diferentes condições produtivas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Capítulo 2: Panorama científico do uso de MO em pequenos ruminantes

2.1 Evolução e estrutura da produção científica

A produção científica sobre *Moringa oleifera* (MO) tem apresentado crescimento expressivo nas últimas duas décadas, impulsionada pelo reconhecimento de suas propriedades nutricionais e bioativas (Anwar et al., 2007; Deepali et al., 2025). Estudos bibliométricos mais amplos sobre a planta indicam que a aceleração das publicações se intensificou na década de 2020, refletindo o interesse crescente por alternativas naturais a insumos convencionais na produção animal (George et al., 2021; Gupta e Ahmed, 2020). No entanto, quando se restringe a análise especificamente à aplicação de MO em ovinos e caprinos, observa-se que o campo ainda é incipiente e fragmentado. A dispersão das publicações em periódicos de diferentes áreas do conhecimento, muitos deles com baixo fator de impacto, indica que a pesquisa sobre MO em pequenos ruminantes ainda não atingiu plena consolidação como campo disciplinar independente (Saleh et al., 2025).

A análise da colaboração internacional revela padrões assimétricos: enquanto países como Egito e México apresentam elevada força de ligação com outras nações, refletindo redes de cooperação estabelecidas, outros países com grande volume de publicações, como a Índia, operam de forma relativamente isolada do ponto de vista da coprodução científica internacional (Donthu et al., 2021; van Eck e Waltman, 2010; George et al., 2021; Gupta e Ahmed, 2020). Essa assimetria tem implicações diretas sobre a visibilidade e o impacto da produção científica, uma vez que estudos colaborativos tendem a alcançar maior audiência e acumular maior número de citações (McManus et al., 2024).

2.2 Eixos temáticos e lacunas de pesquisa

A análise de coocorrência de palavras-chave na literatura sobre MO em ovinos e caprinos evidencia que os estudos se organizam em torno de eixos temáticos dominantes, incluindo digestibilidade, desempenho produtivo, fermentação ruminal, capacidade antioxidante e metabólitos sanguíneos (Kholif e Olafadehan, 2021; George et al. 2021). Estudos mais recentes indicam expansão do campo para áreas como criopreservação seminal, qualidade de carne e leite, e mitigação de metano entérico (Du Preez et al., 2023; Soltan et al., 2018; Webb et al., 2022). Essa diversificação temática reflete a multifuncionalidade da planta e o interesse em explorar seu potencial para além da nutrição animal.

Lacunas significativas persistem na literatura, particularmente no que se refere à padronização metodológica dos protocolos de preparo e dosagem do extrato, à carência de estudos *in vivo* de longa duração em ovinos (em comparação com caprinos), e à ausência de análises de impacto econômico do uso de MO em sistemas de produção (Kholif et al., 2015; Soltan et al., 2018; Du Preez et al., 2023). Essas lacunas orientam a necessidade de investigações experimentais que adotem delineamentos robustos e que permitam a comparação direta entre diferentes formas de apresentação da planta e diferentes espécies.

2.3 Autores, periódicos e instituições de destaque

A identificação dos autores mais produtivos e citados no campo revela a concentração da liderança científica em poucos grupos de pesquisa. Kholif A.E., Gouda G.A. e Morsy T.A., vinculados ao National Research Centre (Egito), destacam-se como os pesquisadores mais influentes, com contribuições sistemáticas sobre o uso de extratos e farinhas de MO em cabras leiteiras (Kholif et al., 2015; Kholif et al., 2018; Kholif et al., 2019). Salem A.Z.M. (México) e Muchenje V. (África do Sul) figuram entre os autores mais cocitados, refletindo a relevância de suas contribuições para a consolidação do campo (George et al., 2021). A distribuição geográfica da produção científica é concentrada, com Índia, Egito e México respondendo pela maior parte dos artigos publicados, enquanto a participação de países da América do Sul, como Brasil, ainda é modesta (Gupta e Ahmed, 2020).

Capítulo 3: Efeitos do extrato aquoso de MO sobre parâmetros nutricionais e fermentativos em ovinos

3.1 Compostos bioativos de MO e potencial modulador ruminal

As folhas de MO apresentam elevada concentração de metabólitos secundários com potencial para modular o ambiente ruminal, incluindo compostos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas e alcaloides (Anwar et al., 2007; Deepali et al., 2025). Estudos *in vitro* demonstraram que extratos de MO podem reduzir a produção de metano, alterar o perfil de ácidos graxos de cadeia curta e melhorar a digestibilidade da matéria orgânica (Akanmu e Hassen, 2017; Elghandour et al., 2017). Soltan et al. (2018) avaliaram diferentes formas de apresentação de MO (casca de raiz, folhas em pó) em cordeiros em crescimento e reportaram efeitos sobre a fermentação ruminal e a digestibilidade, indicando que o potencial da planta transcende sua função como suplemento nutricional. A prospecção fitoquímica do extrato aquoso de folhas de MO revela teores significativos de fenólicos totais, flavonoides e taninos, cuja concentração e atividade biológica dependem do método de extração e da parte da planta utilizada (Djeridane et al., 2006; Pansera et al., 2003; Siddhuraju e Becker, 2003).

O mecanismo de ação desses compostos envolve a interação seletiva com microrganismos ruminais, com possível inibição de bactérias produtoras de amônia e metanogênicas, e estímulo a populações produtoras de propionato (Makkar, 2003). No entanto, a transposição de doses eficazes estabelecidas em sistemas *in vitro* para condições *in vivo* é desafiadora, uma vez que a diluição dos compostos bioativos no conteúdo ruminal, a taxa de passagem e a capacidade de adaptação da microbiota podem reduzir significativamente a concentração efetiva dos metabólitos no sítio de ação (Akanmu et al., 2020; Ben Salem e Makkar, 2009).

3.2 Consumo e digestibilidade aparente de nutrientes

Estudos *in vivo* com extratos e farinhas de MO têm produzido resultados variáveis quanto aos efeitos sobre o consumo voluntário e a digestibilidade de nutrientes em pequenos ruminantes. Kholif et al. (2018) demonstraram melhoria na digestibilidade de matéria seca, matéria orgânica e fibra em detergente neutro em cabras Núbias suplementadas com extrato aquoso líquido de MO, atribuindo o efeito

ao estímulo da atividade microbiana ruminal mediada pelos compostos fenólicos do extrato. Resultados similares foram reportados por Kholif et al. (2015) com farelo de folhas de MO em cabras lactantes, com aumento da digestibilidade da proteína bruta e da fibra.

Em ovinos, no entanto, os resultados são menos consistentes. Soltan et al. (2018) observaram melhorias na digestibilidade de nutrientes em cordeiros suplementados com casca de raiz de MO, mas não com folhas em pó. Du Preez et al. (2023) não detectaram efeitos significativos de extratos metanólicos de MO sobre a digestibilidade de matéria seca, fibra e proteína em borregas Merino, sugerindo que a resposta à suplementação pode ser influenciada pela forma de apresentação do extrato, pela dose administrada e pela espécie animal.

3.3 Fermentação ruminal e parâmetros metabólicos

A fermentação ruminal, caracterizada pelo pH, concentração de nitrogênio amoniacal e perfil de ácidos graxos de cadeia curta, é um indicador sensível da atividade microbiana e da eficiência de utilização dos nutrientes (Satter e Slyter, 1974; Van Soest, 1994). Estudos com extratos e silagem de folhas de MO em caprinos demonstraram aumento da proporção de propionato e redução da concentração de nitrogênio amoniacal, efeitos associados à modulação da população microbiana ruminal (Kholif et al., 2018; Morsy et al., 2022). Em ovinos, no entanto, os resultados são menos conclusivos. Du Preez et al. (2023) não observaram alterações significativas nos parâmetros de fermentação ruminal de borregas Merino suplementadas com extratos metanólicos de MO, enquanto Soltan et al. (2018) reportaram que a casca de raiz de MO aumentou a produção de acetato e os AGCC totais em cordeiros, sem efeito significativo sobre a amônia ruminal.

A ausência de efeito consistente sobre o pH ruminal é um achado recorrente em estudos com extratos vegetais em condições de manutenção, uma vez que a capacidade tamponante do rúmen e a produção moderada de ácidos graxos voláteis nessas condições limitam a magnitude das alterações (Makkar, 2003). Em relação aos parâmetros sanguíneos, os estudos disponíveis indicam que extratos de MO, nas doses avaliadas, não produzem efeitos adversos sobre enzimas hepáticas (AST, ALT), glicose, ureia e colesterol, reforçando o perfil de segurança metabólica da

planta (Akanmu et al., 2020; Kholif et al., 2018). Estudos com outros aditivos em ovinos como monensina e nisina também reportam ausência de efeitos adversos sobre o perfil metabólico (Luo et al., 2024).

Capítulo 4: Aplicação tecnológica do extrato de MO em produtos cárneos

4.1 Oxidação lipídica e uso de antioxidantes naturais em produtos cárneos

A oxidação lipídica é reconhecida como um dos principais fatores de deterioração da qualidade em produtos cárneos processados, comprometendo o sabor, a cor, o valor nutritivo e a segurança microbiológica (Domínguez et al., 2019; Domínguez et al., 2022). Em hambúrgueres, cuja formulação inclui carnes moídas com elevado conteúdo lipídico e ampla superfície de contato com o oxigênio, esse processo é acelerado pelas condições de processamento e armazenamento (Falowo et al., 2014). Embora antioxidantes sintéticos como BHA, BHT e ácido ascórbico sejam eficazes e amplamente empregados, a crescente demanda dos consumidores por produtos com ingredientes de origem natural e o escrutínio regulatório sobre aditivos sintéticos têm estimulado a pesquisa por alternativas naturais (Hadidi et al., 2022; Lorenzo et al., 2018; Pires et al., 2017; Khezerlou et al., 2022; Esazadeh et al., 2024).

Extratos vegetais ricos em compostos fenólicos têm demonstrado potencial antioxidante relevante em sistemas cárneos (de Carvalho et al., 2019; Fernandes et al., 2017). Os compostos fenólicos atuam por diferentes mecanismos, incluindo a quelatação de íons metálicos, a interrupção das reações em cadeia de radicais livres e a regeneração de antioxidantes endógenos (Lorenzo et al., 2019). No entanto, a eficácia desses extratos em matrizes cárneas complexas é influenciada por múltiplos fatores, incluindo a concentração de compostos bioativos, a solubilidade dos extratos na fase aquosa e lipídica da carne, e as interações dos polifenóis com proteínas e outros componentes da matriz (Domínguez et al., 2019; Hadidi et al., 2022).

4.2 Efeitos de MO sobre a estabilidade oxidativa e qualidade de produtos cárneos

Estudos com MO em produtos cárneos têm demonstrado resultados promissores quanto à redução da oxidação lipídica e à manutenção da qualidade sensorial. Das et al. (2012) verificaram redução da peroxidação lipídica em patês de caprinos adicionados de extrato de folhas de MO, enquanto Muthukumar et al. (2014) reportaram resultados similares em patês suínos. Al-Juhaimi et al. (2016) demonstraram em hambúrgueres bovinos que diferentes níveis de farinha de sementes de MO reduziram a oxidação lipídica e influenciaram a composição centesimal. Em carne ovina especificamente, Mashau et al. (2021) e Khomola et al. (2021) reportaram resultados promissores com extrato aquoso e com farinha de folhas de MO, respectivamente, evidenciando melhoria dos parâmetros oxidativos e sensoriais durante o armazenamento refrigerado.

No entanto, o comportamento de extratos vegetais em sistemas cárneos não é linear. Estudos têm demonstrado que polifenóis podem apresentar efeito pró-oxidante em altas concentrações, especialmente na presença de íons metálicos de transição, como ferro e cobre, intrínsecos à matriz cárnea (Falowo et al., 2017). A redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} mediada por polifenóis catalisa a reação de Fenton, gerando radicais hidroxila que iniciam a peroxidação lipídica, contrapondo-se ao efeito antioxidante esperado. Esse comportamento bifásico, documentado por Mashau et al. (2021) em patês de carne ovina com extrato de folha de MO, indica que a determinação da concentração ótima do extrato é crítica para o sucesso tecnológico da formulação.

4.3 Atributos sensoriais, cor e características de cozimento

A incorporação de extratos vegetais em produtos cárneos afeta não apenas a estabilidade oxidativa, mas também atributos sensoriais determinantes para a aceitação pelo consumidor, como cor, sabor e textura (Ahmed et al., 2022; Fernandes et al., 2017). O escurecimento progressivo de hambúrgueres adicionados de extratos de MO é amplamente reportado na literatura e é atribuído à pigmentação inerente do extrato (coloração verde-acastanhada das folhas) e à capacidade dos polifenóis de interagir com proteínas cárneas, gerando pigmentos escuros (Falowo et al., 2018; Khomola et al., 2021). O cozimento tende a acentuar esse escurecimento, pela degradação térmica de clorofilas e pela ocorrência de reações

de Maillard entre aminoácidos e açúcares redutores do extrato (Ahmed et al., 2022; Domínguez et al., 2019).

As propriedades de cozimento, incluindo rendimento, encolhimento dimensional e força de cisalhamento, são indicadores importantes da qualidade tecnológica do produto (de Carvalho et al., 2019; Vergara et al., 2021). A redução do rendimento de cozimento observada em produtos adicionados de extratos fenólicos é atribuída à interação dos polifenóis com proteínas miofibrilares, que modifica as propriedades viscoelásticas da rede proteica durante a desnaturação térmica, reduzindo a capacidade de retenção de água (Ahmed et al., 2022; Domínguez et al., 2022). A análise sensorial, por sua vez, constitui o critério final de avaliação da viabilidade tecnológica de novos ingredientes. Estudos com MO em produtos cárneos indicam que concentrações elevadas de extrato ou farinha comprometem a aceitação sensorial, particularmente nos atributos de cor e sabor (Allhyani et al., 2024; Dubeni et al., 2025; Mashau et al., 2021). A identificação da concentração de equilíbrio entre proteção antioxidante e aceitação sensorial é, portanto, um passo essencial para o desenvolvimento de formulações tecnicamente viáveis.

5. OBJETIVOS

Analisar a estrutura, a evolução e as tendências da produção científica sobre MO na nutrição, saúde e produção de ovinos e caprinos em escala global, por meio de análises bibliométricas de autoria, padrões de citação, afiliações institucionais, periódicos, países, coocorrência de palavras-chave, cocitação e acoplamento bibliográfico usando Scopus.

Avaliar os efeitos de diferentes concentrações de EAMO como aditivo dietético sobre o consumo, a digestibilidade aparente da dieta e os parâmetros de fermentação ruminal em ovinos Pantaneiros.

Avaliar os efeitos da incorporação do EAMO em diferentes concentrações (2%, 4% e 6%) sobre a composição centesimal, a capacidade antioxidante, a oxidação lipídica (TBARS), o pH, os atributos de cor, as características de cozimento e a aceitação sensorial de hambúrgueres de carne ovina armazenados sob congelamento (-18 °C) por 90 dias, comparando-os a um controle formulado com ácido ascórbico (0,1%).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, I.A.M., Babiker, E.E., Al-Juhaimi, F.Y., Bekhit, A.E.-D.A. 2022. Clove Polyphenolic Compounds Improve the Microbiological Status, Lipid Stability, and Sensory Attributes of Beef Burgers during Cold Storage. *Antioxidants*, 11, 1354. <https://doi.org/10.3390/antiox11071354>
- Akanmu, A.M., Hassen, A. 2017. The use of certain medicinal plant extracts reduced in vitro methane production while improving in vitro organic matter digestibility. *Animal Production Science*, 58(5), 900-908. <https://doi.org/10.1071/AN16291>
- Akanmu, A.M., Hassen, A., Adejoro, F.A. 2020. Haematology and Serum Biochemical Indices of Lambs Supplemented with *Moringa oleifera*, *Jatropha curcas* and *Aloe vera* Leaf Extract as Anti-Methanogenic Additives. *Antibiotics*, 9, 601, <https://dx.doi.org/10.3390/antibiotics9090601>
- Akanmu, A.M., Hassen, A., van Marle-Köster, E., Azaizeh, H., Apostolides, Z., Landau, S.Y. 2025. Synergistic effects of bioactive plant extract mixtures on methane reduction and rumen fermentation of eragrostis curvula hay *in vitro*. *Scientific Reports*, 15, 34878. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-16544-x>
- Al-Juhaimi, F., Ghafoor, K., Hawashin, M.D., Alsawmahi, O.N., Babiker, E.E. 2016. Effects of different levels of Moringa (*Moringa oleifera*) seed flour on quality attributes of beef burgers. *CyTA - Journal of Food*, 14(1), 1–9. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1034784>
- Allhyani, A.A., Baeshen, M., Elsharawy, N.T. 2024. Influence of *Moringa oleifera* leaf extracts on the microbiological and physical properties of chevon meat. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 12(s1): 14-23. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2024/12.s1.14.23>
- Amaral, A.B., da Silva, M.V., Lannes, S.C.S. 2018. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review. *Food Science and Technology*, 38(Suppl. 1), 1-15. <https://doi.org/10.1590/fst.32518>

Ammar, H., Kholif, A.E., Horst, E.H., de Haro Marti, M.E., Teixeira, I.A.M.A., Hlel, N., Morsy, T.A., Fahmy, M., Gouda, G.A., Mateos, I., López, S., Chahine, M. 2024. Chemical composition and in vitro rumen fermentation kinetics of leaves and stems of *Moringa oleifera* and *Leucaena leucocephala* as potential feedstuffs for sheep, *Cogent Food & Agriculture*, 10(1), 2405881. <https://doi.org/10.1080/23311932.2024.2405881>

Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A.H. 2007. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research*, 21(1), 17-25. <https://doi.org/10.1002/ptr.2023>

Appuhamy, J.A.D.R.N., Strathe, A.B., Jayasundara, S., Wagner-Riddle, C., Dijkstra, J., France, J., Kebreab, E. 2013. Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef cattle: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 96(8), 5161-5173. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5923>

Ben Salem, H., Makkar, H.P.S. 2009. Defatted *Moringa oleifera* seed meal as a feed additive for sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 150(1–2), 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.07.007>

Carresi, C., Marabelli, R., Roncada, P., Britti, D. 2024. Is the Use of Monensin Another Trojan Horse for the Spread of Antimicrobial Resistance? *Antibiotics*, 13, 129. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13020129>

Das, A.K., Rajkumar, V., Verma, A.K., Swarup, D. 2012. *Moringa oleifera* leaves extract: a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in cooked goat meat patties. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 585–591. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02881.x>

Deepali, D., Gulia, V., Dhull, S.S.; Beniwal, D.; Rani, J.; Abdi, G. 2025. Unveiling *Moringa oleifera*: potent source of antioxidant and antibacterial properties. *Discover Applied Sciences*, 7, 381. <https://doi.org/10.1007/s42452-025-06836-2>

de Carvalho, F.A.L., Lorenzo, J.M., Pateiro, M., Bermúdez, R., Purriños, L., Trindade, M.A. 2019. Effect of guarana (*Paullinia cupana*) seed and pitanga (*Eugenia uniflora*

L.) leaf extracts on lamb burgers with fat replacement by chia oil emulsion during shelf life storage at 2 °C. *Food Research International*, 125, 108554. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108554>

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, 654-660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028>

Domínguez, R., Pateiro, M., Munekata, P.E.S., Zhang, W., Garcia-Oliveira, P.; Carpena, M., Prieto, M.A., Bohrer, B., Lorenzo, J.M. 2022. Protein Oxidation in Muscle Foods: A Comprehensive Review. *Antioxidants*, 11, 60. <https://doi.org/10.3390/antiox11010060>

Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F.J., Zhang, W., Lorenzo, J.M. 2019. A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. *Antioxidants*, 8(10), 429. <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>

Donthu, N., Kumar, S., Mukherjee, D., Pandey, D., Lim, W.M. 2021. How to conduct a bibliometric analysis: An overview and guidelines. *Journal of Business Research*, 133, 285–296. <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2021.04.070>

Dubeni, Z.B., Buwa-Komoreng, L.V., Mthi, S. 2025. The Potential Application of *Moringa oleifera* Extracts as Natural Preservatives of Chicken Meat. *Pharmacognosy Magazine*, 21(2), 561–572. <https://doi.org/10.1177/09731296241288922>

Du Preez, D.A., Akanmu, A.M., Adejoro, F.A., Hassen, A. 2023. The Effect of Monensin vs. Neem, and *Moringa* Extracts on Nutrient Digestibility, Growth Performance, Methane, and Blood Profile of Merino Lambs. *Animals*, 13, 3514. <https://doi.org/10.3390/ani13223514>

Elghandour, M.M.Y., Vallejo, L.H., Salem, A.Z.M., Mellado, M., Camacho, L.M., Cipriano, M., Olafadehan, O.A., Olivares, J., Rojas, S. 2017. *Moringa oleifera* leaf meal as an environmental friendly protein source for ruminants: Biomethane and

carbon dioxide production, and fermentation characteristics. *Journal of Cleaner Production*, 165, 1229-1238. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.07.151>

Esazadeh, K., Dolatabadi, J.E.N., Andishmand, H., Mohammadzadeh-Aghdash, H., Mahmoudpour, M., Kermanshahi, M.N., Roosta, Y. 2024. Cytotoxic and genotoxic effects of tert-butylhydroquinone, butylated hydroxyanisole and propyl gallate as synthetic food antioxidants. *Food Science & Nutrition*, 12(10), 6897-8499. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4373>

Falowo, A.B., Mukumbo, F.E., Idamokoro, E.M., Lorenzo, J.M., Afolayan, A.J., Muchenje, V. 2018. Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam. in nutrition and animal food products: A review. *Food Research International*, 106, 317–334. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.079>

Falowo, A.B., Muchenje, V., Hugo, A., Aiyegoro, O.A., Fayemi, P.O. 2017. Antioxidant activities of *Moringa oleifera* L. and *Bidens pilosa* L. leaf extracts and their effects on oxidative stability of ground raw beef during refrigeration storage. *CyTA - Journal of Food*, 15:2, 249-256, <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1243587>

Falowo, A.B., Fayemi, P.O., Muchenje, V. 2014. Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64, 171–181. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.022>

Fernandes, R.P.P., Trindade, M.A., Tonin, F.G., Pugine, S.M.P., Lima, C.G., Lorenzo, J.M., de Melo, M.P. 2017. Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract. *Food Chemistry*, 233, 101–109. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.100>

George, T.T., Obilana, A.O., Oyenih, A.B., Rautenbach, F.G. 2021. *Moringa oleifera* through the years: a bibliometric analysis of scientific research (2000-2020). *South African Journal of Botany*, 141, 12–24. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.04.025>

Grijalva-Hinojos, A.A., Arnau, V., Díaz,W., Piquer, S., Díaz-Plascencia, D., Castillo-Castillo, Y., Domínguez-Viveros, J., Ordoñez-Baquera, P.L. 2025. Metatranscriptome

Analysis of Sheep Rumen Reveals Methane Production Changes Induced by *Moringa oleifera* as a Dietary Supplement. *Fermentation*, 11, 568. <https://doi.org/10.3390/fermentation11100568>

Gupta, B.M., Ahmed, K.K.M. 2020. *Moringa Oleifera*: A Bibliometric Analysis of India's Publications during 1980-2019. *Journal of Young Pharmacists*, 12(3), 207-214. <https://doi.org/10.5530/jyp.2020.12.62>

Hadidi, M., Orellana-Palacios, J.C., Aghababaei, F., Gonzalez-Serrano, D.J., Moreno, A., Lorenzo, J.M. 2022. Plant by-product antioxidants: Control of protein-lipid oxidation in meat and meat products. *LWT*, 169, 114003. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114003>

Khezerlou, A., Akhlaghi, A.p., Alizadeh, A.M., Dehghan, P., Maleki, P. 2022. Alarming impact of the excessive use of tert-butylhydroquinone in food products: A narrative review. *Toxicology Reports*, 9, 1066-1075. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.04.027>

Kholif, A.E., Olafadehan, O.A. 2021. Essential oils and phytogetic feed additives in ruminant diet: chemistry, ruminal microbiota and fermentation, feed utilization and productive performance. *Phytochemistry Reviews*, 20, 1087–1108. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09739-3>

Kholif, A.E., Gouda, G.A., Galyean, M.L., Anele, U.Y., Morsy, T.A. 2019. Extract of *Moringa oleifera* leaves increases milk production and enhances milk fatty acid profile of Nubian goats. *Agroforestry Systems*, 1877–1886. <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0292-9>

Kholif, A.E., Gouda, G.A., Anele, U.Y., Galyean, M.L. 2018. Extract of *Moringa oleifera* leaves improves feed utilization of lactating Nubian goats. *Small Ruminant Research*, 158, 69–75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.10.014>

Kholif, A.E., Gouda, G.A., Morsy, T.A., Salem, A.Z.M., Lopez, S., Kholif, A.M. 2015. *Moringa oleifera* leaf meal as a protein source in lactating goat's diets: Feed intake, digestibility, ruminal fermentation, milk yield and composition, and its fatty acids

profile. *Small Ruminant Research*, 129, 129-137.
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.05.007>

Khomola, G.T., Ramatsetse, K.E., Ramashia, S.E., Mashau, M.E. 2021. The incorporation of *Moringa oleifera* leaves powder in mutton patties: Influence on nutritional value, technological quality, and sensory acceptability. *Open Agriculture*, 6, 738–748. <https://doi.org/10.1515/opag-2021-0043>

Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., Bertoli, S. 2015. Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6), 12791-12835; <https://doi.org/10.3390/ijms160612791>

Lorenzo, J.M., Trindade, M.A., Ahn, D.U., Barba, F.J. 2019. Natural antioxidants to reduce the oxidation process of meat and meat products. *Food Research International*, 115, 377-378. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.015>

Lorenzo, J.M., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba, F.J., Putnik, P., Kovačević, D.B., Shpigelman, A., Granato, D., Franco, D. 2018. Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. *Food Research International*, 106, 1095-1104. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.005>

Luo, J., Jiang, J., Duan, H., Zhang, H., Sun, M., Mao, S., Shen, J. 2024. Comparative effects of nisin and monensin supplementation on growth performance, rumen fermentation, nutrient digestion, and plasma metabolites of fattening Hu sheep. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1441431. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1441431>

Makkar, H.P.S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49(3), 241–256. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00142-1](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1)

Mashau, M.E., Munandi, M., Ramashia, S.E. 2021. Exploring the influence of *Moringa oleifera* leaves extract on the nutritional properties and shelf life of mutton

patties during refrigerated storage. *CyTA - Journal of Food*, 19(1), 389–398.
<https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1910732>

McManus, C., Pimentel, F., Ferraz, J.B.S., Núñez-Domínguez, R., Guimarães, R.F., Pimentel, D., Gama, L.T., Costa, N.S., Peripolli, V. 2024. Mapping the composite cattle worldwide using bibliometric analysis. *Livestock Science*, 290, 105593.
<https://doi.org/10.1016/j.clcb.2023.100046>

Morsy, T.A., Hadhoud, F.I., Kholif, A.E., Abu Elella, A.A., Olafadehan, O.A. 2022. Potential of *Moringa oleifera* silage to replace concentrate feed mixture in diet of lactating Damascus goats. *Annals of Animal Science*, 22(4), 1373–1383.
<https://doi.org/10.2478/aoas-2022-0058>

Mostafa, S., Tushar, Z.H., Hashem, A., Rahman, M. 2025. Role of natural antioxidants on active packaging of meat and meat products: A review. *Applied Food Research*, 5(2), 101437. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101437>

Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P.J., Muchenje, V. 2012. Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with *Moringa oleifera* leaves/sunflower seed cake. *Meat Science*, 91, 441–447. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.029>

Muthukumar, M., Naveena, B.M., Vaithyanathan, S., Sem, A.R., Sureshkumar, K. 2014. Effect of incorporation of *Moringa oleifera* leaves extract on quality of ground pork patties. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 3172–3180. 2014.
<https://doi.org/10.1007/s13197-012-0831-8>

Pansera, M.R., Santos, A.C.A., Wasum, R., Rossato, M., Rota, L.D., Pauletti, G.F., Serafini, L.D. 2003. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13(1), 17-23. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2003000100002>

Pires, M.A., Munekata, P.E.S., Villanueva, N.D.M., Tonin, F.G., Baldin, J.C., Rocha, Y.J.P., Carvalho, L.T., Rodrigues, I., Trindade, M.A. 2017. The Antioxidant Capacity of Rosemary and Green Tea Extracts to Replace the Carcinogenic Antioxidant (BHA)

in Chicken Burgers. *Journal of Food Quality*, 2409527, 6. <https://doi.org/10.1155/2017/2409527>

Saleh, A.Y., Saputra, D.A.Y., Valentina, R., Susanto, T.D. 2025. The Miracle *Moringa Oleifera* Tree: A Bibliometric Review of Its Neuroprotective Properties. *Pharmacognosy Journal*, 17, 2, 258-276. <https://dx.doi.org/10.5530/pj.2025.17.33>

Satter, L.D., Slyter, L.L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition*, 32(2), 199–208. <https://doi.org/10.1079/BJN19740073>

Siddhuraju, P., Becker, K. 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(8), 2144-2155. <https://doi.org/10.1021/jf020444+>

Soltan, Y.A., Hashem, N.H., Morsy, A.S., El-Azrak, K.M., Nour El-Din, A., Sallam, S.M. 2018. Comparative effects of *Moringa oleifera* root bark and monensina supplementations on ruminal fermentation, nutrient digestibility and growth performance of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 235, 189–201. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.021>

Vergara, H., Cózar, A., Rubio, N. 2021. Lamb meat burgers shelf life: effect of the addition of different forms of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.). *CyTA - Journal of Food*, 19:1, 606-613, <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1938238>

van Eck, N.J., Waltman, L. 2010. Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. *Scientometrics*, 84, 523–538. <https://doi.org/10.1007/s11192-009-0146-3>

Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd ed. Cornell University Press.

Webb, E.C., Hassen, A., Olaniyi, M.O., Pophiwa, P. 2022. Effect of Dietary Inclusion of *Azadirachta indica* and *Moringa oleifera* Leaf Extracts on the Carcass Quality and

Fatty Acid Composition of Lambs Fed High Forage Total Mixed Rations. *Animals*, 12, 2039. <https://doi.org/10.3390/ani12162039>

CAPÍTULO 2 – ARTIGO 1

Bibliometric Insights into *Moringa oleifera* Applications in Small Ruminant Production Systems¹

Gustavo Daniel Vega Britez¹; Tatiane Fernandes²; Bianca Bruna Nascimento Ribeiro¹; Ana Beatriz dos Santos¹; Nicolly da Silva Araujo¹; Rodrigo Andreo Santos¹; Nubia Michelle Vieira da Silva¹; Elenice Souza dos Reis Goes¹; Fernando Miranda de Vargas Junior¹

¹ Faculty of Agrarian Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil. 1; e-mail: gustavo.vega@agr.una.py; biancalima18217@gmail.com; anabsn0@gmail.com; nickAraujo0610@gmail.com; rodrigoandreovet@gmail.com; nubiasilva@ufgd.edu.br; elenicegoes@ufgd.edu.br;

² Virginia Tech, School of Animal Sciences, Blacksburg2; e-mail: fernandest@vt.edu

*Correspondence: e-mail: fernandojunior@ufgd.edu.br

Simple Summary

This study analyzes global research on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat production between 2000 and 2025. Scientific interest increased strongly after 2020, with India and Egypt leading publications. Most studies focused on animal nutrition and productive performance, highlighting the potential of *Moringa oleifera* as a sustainable feed resource for small ruminants. Recent research has also explored reproductive biology and methane mitigation, reflecting the search for more environmentally sustainable livestock systems. However, important gaps remain, particularly regarding methodological standardization and the economic impacts of its use in production systems. Overall, the findings demonstrate the growing scientific relevance of *Moringa oleifera* and identify key areas for future research and practical application in sheep and goat farming.

Abstract

The multifunctionality of *Moringa oleifera* is widely recognized; however, its application in small ruminant production remains limited. This study aimed to analyze research trends, scientific structures, and knowledge gaps related to the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat production

Academic Editor: Firstname
Lastname

Received: date
Revised: date
Accepted: date
Published: date

Citation: To be added by editorial staff during production.

Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

¹ Este capítulo corresponde ao artigo científico submetido à revista *Ruminants* [ISSN: 2673-933X] e encontra-se em avaliação para publicação.

through a bibliometric approach. A total of 166 articles published between 2000 and 2025 were retrieved from the Scopus database and analyzed using VOSviewer and bibliometrix (R). Data mining identified contributions from 37 countries, 677 authors, and 202 institutional affiliations across 17 subject areas and 93 journals. Publication output increased markedly after 2020, with India, Egypt, and Mexico leading scientific production. Keyword co-occurrence analysis revealed animal nutrition and productive performance as the main research themes, with recent expansion toward reproductive biology and enteric methane mitigation. A. E. Kholif and G. A. Gouda were the most cited authors. Bibliographic coupling analysis identified four thematic clusters, indicating disciplinary expansion beyond traditional animal science. Important gaps remain regarding the economic impacts of *Moringa oleifera* use and the standardization of preparation methods, including plant parts, extraction procedures, solvents, and dosages.

Keywords: Animal nutrition; Functional feed; Goats; Methane mitigation; Sheep

1. Introduction

The *Moringa oleifera* (MO) is a multifunctional plant recognized for its high nutritional value and the presence of bioactive compounds with antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and anti-inflammatory properties [1, 2]. Its potential as a functional feed additive has attracted increasing interest in small ruminant production, with studies reporting effects on nutrient utilization, ruminal fermentation, milk quality, meat quality, reproductive performance, and enteric methane mitigation [3–7]. This growing scientific interest reflects the search for nutritional strategies capable of improving productive efficiency and sustainability in sheep and goat production systems. However, despite the expansion of research, the available evidence remains methodologically fragmented, limiting the consolidation of current knowledge.

In vivo evidence in sheep and goats is still limited compared with the broad claims derived from in vitro and in situ studies. Published studies exhibit considerable heterogeneity regarding the plant parts used, extraction methods, and dosage protocols. This methodological fragmentation is evidenced by the use of different MO forms, including leaf meal, aqueous extract, defatted seed meal, root bark, and forage mixtures [7–13], applied across different species, breeds, inclusion levels, and experimental designs, making comparisons among studies methodologically challenging. The diversity of response variables investigated further intensifies this limitation, hindering the identification of consistent trends and the formulation of practical recommendations. Despite the progressive increase in the number of publications, no systematic bibliometric mapping of this field has yet been conducted.

Bibliometric analyses provide quantitative tools to identify research trends, collaboration networks, thematic clusters, and knowledge gaps that are often not evident through narrative reviews [14]. The software VOSviewer has been widely used for this purpose in animal science and related fields [15–17]. In this context, bibliometric approaches may contribute to a broader understanding of the structure and evolution of research involving MO in small ruminant production.

Therefore, this study aimed to analyze the structure, evolution, and trends of the global scientific production related to MO in the nutrition, health, and production of sheep and goats through bibliometric analyses of authorship, citation patterns, institutional affiliations, journals, countries, keyword co-occurrence, co-citation, and bibliographic coupling. Specifically, this study sought to answer the following questions: (i) How has the number of publications on this topic evolved? (ii) Which journals, authors, and geographic regions are the most influential in the field? and (iii) Which knowledge gaps and future research directions emerge from the analysis of the scientific corpus?

2. Materials and Methods

The literature search was conducted on January 10, 2026, using the following keyword combination: Title-Abs-Key ("Moringa oleifera" OR "Moringa olifera" OR "M. oleifera" OR "Moringa") AND Title-Abs-Key ("sheep" OR "ewe" OR "lamb*" OR "ovine" OR "ram" OR "goat*" OR "caprine") AND NOT Title ("Moringa peregrina" OR "Moringa stenopetala" OR "Meta-analysis" OR "review"). Although searches across multiple databases are increasingly recommended, previous studies have demonstrated a high overlap in coverage between Scopus and Web of Science [18]. Furthermore, Scopus provides broader multidisciplinary and international journal coverage, supporting its exclusive use in the present study. Only original research articles published in English between January 1, 2000, and December 31, 2025, with DOI and declared keywords, were included according to the criteria detailed in Figure 1 [19]. The selected time frame was established because publications related to the topic were nearly nonexistent before 2000. Reviews and meta-analyses were excluded because they do not directly represent primary experimental data related to the investigated topic.

After applying the filters, 166 articles were selected and exported as a CSV file. This file was subsequently analyzed and mapped using VOSviewer (version 1.6.20) [15].

Following data importation, the files were cleaned using the text spreadsheet editor files thesaurus_authors and thesaurus_terms, according to the VOSviewer manual. This process included standardization of author names (e.g., "Piñeiro-Vázquez Á.T." and "Piñeiro-Vázquez Á." unified as "Piñeiro-Vázquez A.T."; "El-ghandour M.M.Y." and "Elghandour M.M." unified as "Elghandour M.M.Y."), keyword harmonization (singular and plural forms, such as "anthelmintics" standardized to "anthelmintic", and synonymous terms

such as “ewe’s” and “goat’s” standardized to “ewe” and “goat”, respectively), and unification of institutional affiliation names to generate bibliometric maps based on the selected data types [15].

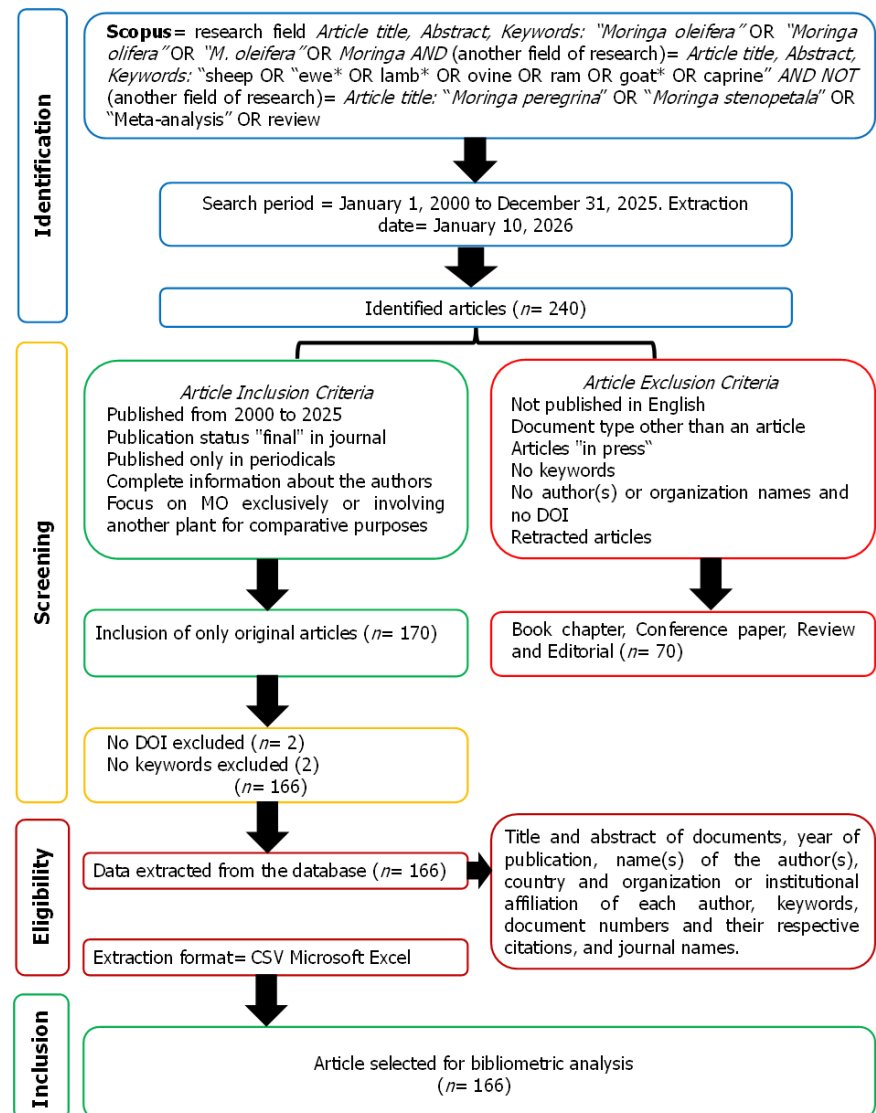


Figure 1. PRISMA flow diagram for bibliographic search and screening.

Bibliographic coupling occurs when two different works (original scientific articles) cite a third work, whereas co-citation occurs when two separate documents are jointly referenced by a third document [20]. Similar to bibliographic coupling, co-citation is considered a measure of semantic similarity among documents based on citation analysis [21].

In the generated network maps, node size reflects the frequency of occurrence, colors indicate membership within algorithmically defined clusters, and edge thickness represents the strength of the links between elements, following the standard methodology of VOSviewer [15].

Links, or total link strength, represent the number of times that terms (authors, citations, co-citations, affiliations, and keyword co-occurrences) appear together within the same article. The stronger the

connection between two terms, the more frequently they co-occur, indicating a possible relationship between concepts [20, 22, 23]. The figure illustrating the temporal evolution of authors' scientific production was generated using the Biblioshiny package from the bibliometrix library in RStudio version 2026.04.0+526 [24].

VOSviewer is a software tool designed for the construction and visualization of bibliometric maps. Fractional counting was applied, in which each document receives a fractional unit according to the number of co-authors. The methodological foundations of bibliometric analysis, including the construction of co-authorship, co-citation, and keyword co-occurrence maps, are described in detail by Donthu et al. [14] and van Eck and Waltman [15, 22].

3. Results

3.1. Research Trend Analysis

A total of 166 original articles on the use of *Moringa oleifera* in small ruminants, including sheep and goats, were retrieved from the Scopus database between 2000 and 2025. All documents were published in English. Overall, 677 authors from 37 countries contributed to the scientific literature on the use of MO in sheep and goat production, distributed across 93 journals. These authors were affiliated with 202 different institutions, generating 370 keyword co-occurrences, 17 subject areas, and 2,712 citations.

No articles related to the research topic were published in the Scopus database in 2000, 2001, 2007, or 2008. Furthermore, before the adopted time frame (before 2000), no eligible publications meeting the applied search criteria were identified. Although the expansion of MO research in other scientific fields has been widely documented since the early 2000s, studies involving sheep and goats are relatively recent and became predominantly concentrated between 2020 and 2025. In addition, articles published in 2012 received the highest citation counts (Figure 2).

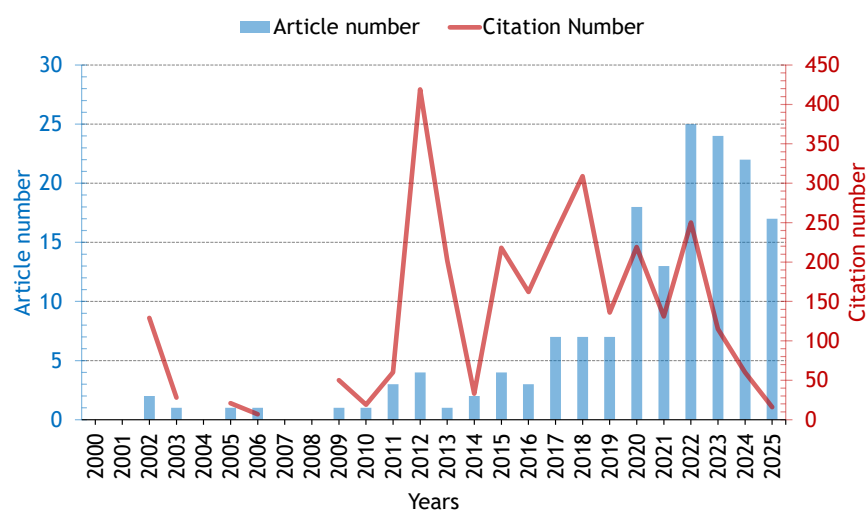


Figure 2. Temporal evolution of annual scientific production and total citation counts related to the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research between 2000 and 2025, based on bibliometric analysis of publications indexed in Scopus.

Among the 17 identified subject areas, agriculture and biological sciences accounted for the largest proportion of studies involving MO in sheep and goats (41.9%), followed by veterinary science (28.7%), biochemistry, genetics, and molecular biology (4.5%), environmental science (4.2%), medicine (3.4%), and immunology and microbiology (2.6%). The remaining subject areas represented 14.7% of the publications (Supplementary Figure S1).

3.2. Country Participation in Research on the Use of MO in Sheep and Goats

Global research participation by country revealed that 37 countries published original articles on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat production. India (44 publications), Egypt (32), Mexico (19), Indonesia (17), and Saudi Arabia (13) were the countries with the highest number of publications.

In terms of total citations, Egypt ranked first with 832 citations, followed by South Africa (592), India (398), the United States (366), and Mexico (352). South Africa (59.20) and the United States (52.29) showed the highest average citations per publication, whereas India recorded an average of 9.05 citations per publication (Table 1).

Table 1. The 15 leading countries with the highest number of publications on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research.

Country	TP	TC	TLS	MCP
India	44	398	10	9.05
Egypt	32	832	25	26.00
Mexico	19	352	18	18.53
Indonesia	17	72	2	4.24
Saudi Arabia	13	229	5	17.62
Nigeria	11	238	5	21.64
South Africa	10	592	1	59.20
Brazil	8	42	5	52.29
United States	7	366	11	52.29
Spain	6	144	9	24.00
China	5	81	3	16.20
Tunisia	4	73	6	18.25
Ghana	4	26	2	6.50
New Zealand	4	11	4	2.75
Tanzania	3	86	1	28.67

TP: total publications; TC: total citations; TLS: total link strength; MCP: mean citations per publication.

Regarding total link strength (TLS), Egypt (25), Mexico (18), and the United States (11) exhibited the strongest international research connections. Despite its high number of publications, India showed a

relatively low TLS value (10). In contrast, South Africa presented a high mean citation rate per publication and a low TLS value (1), indicating limited international collaboration. The strongest international cooperation links were observed among Egypt, Saudi Arabia, and the United States (Figure 3).

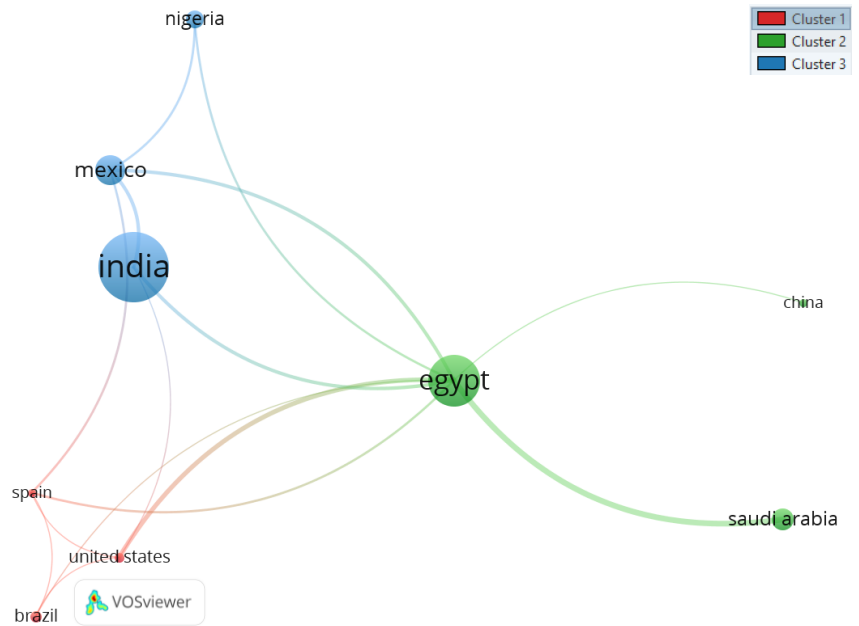


Figure 3. International collaboration network among countries with at least five publications on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research. Node size represents publication volume, line thickness indicates collaboration strength between countries, and colors denote collaboration clusters identified by VOSviewer.

3.3. Participation of Institutions and Affiliations in Research on the Use of MO in Sheep and Goats

The number of publications and citations by institutions is presented in Table 2. A total of 202 institutions/affiliations contributed to research involving *Moringa oleifera* in sheep and goats, of which 23 institutions published at least four articles.

Table 2. Representation of the leading institutions with at least four original research articles published on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research.

Most Productive Organizations	TP	TC	TLS	MCP
National Research Centre	21	672	33	32.00
Universidad Autónoma del Estado de México	8	264	23	33.00
Central Institute for Research on Goats	8	157	6	19.63
Agriculture Research Center	6	74	15	12.33
Tecnológico Nacional de México	6	50	14	8.33
King Saud University	5	145	4	29.00
Alexandria University	5	114	11	22.80

Most Productive Organizations	TP	TC	TLS	MCP
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez	5	72	8	14.40
King Faisal University	5	70	2	14.00
Maharashtra Animal & Fishery Science University	5	7	6	1.40
West Bengal University of Animal and Fishery Sciences	4	123	10	30.75
Universidad Autónoma de Guerrero	4	95	13	23.75
Central Sheep and Wool Research Institute	4	67	3	16.75
Cairo University	4	66	6	16.50
University of Pretoria	4	64	1	16.00
Desert Research Center	4	55	6	13.75
Ladoke Akintola University of Technology	4	52	2	13.00
Federal University of Technology	4	44	6	11.00
UFERSA	4	39		9.75
UFRPE	4	38		9.50
National Dairy Research Institute	4	35		8.75
Evangelical Presbyterian University College	4	26		6.50
University of Ghana	4	26		6.50
Massey University	4	11		2.75
University of Fort Hare	3	492		164.00

TP: total publications; TC: total citations; TLS: total link strength; MCP: mean citations per publication; UFERSA: Federal Rural University of the Semi-Arid; UFRPE: Federal Rural University of Pernambuco.

The National Research Centre was the institution with the highest scientific output, totaling 21 documents, followed by Universidad Autónoma del Estado de México and Central Institute for Research on Goats, both with eight publications. Agriculture Research Center and Tecnológico Nacional de México completed the group of the five most productive institutions.

The National Research Centre also recorded the highest total number of citations (672), whereas Universidad Autónoma del Estado de México showed the highest mean citation rate per publication (33.0). Among the institutions with at least four published articles, five were located in Egypt, four in Mexico, and four in India. Saudi Arabia, Nigeria, Brazil, and Ghana each contributed two institutions, while South Africa and New Zealand contributed one institution each.

The highest total link strength (TLS) values were observed for the National Research Centre, Agriculture Research Center, and Universidad Autónoma del Estado de México. Among Brazilian institutions, universities from the Northeast region were the most prominent.

3.4. Journal Participation in Research on the Use of MO in Sheep and Goats

Publications related to *Moringa oleifera* in sheep and goat research were distributed across 93 journals. Among these, 15 journals published

at least three original articles, whereas 13 journals published two articles each and 65 journals published only one original article.

The journals with the highest number of publications were Tropical Animal Health and Production, with nine documents, followed by Livestock Research for Rural Development and Animals, both with seven publications. Agroforestry Systems and Advances in Animal and Veterinary Sciences each published six articles (Table 3).

Table 3. Representation of the 15 leading journals (minimum of three publications) publishing original research articles on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research.

Journals	IF	TP	TC	FLS	MCP
Tropical Animal Health and Production	1.70	9	136	37	15.11
Livestock Research for Rural Development	0.50	7	96	4	13.71
Animals	2.70	7	95	52	13.57
Agroforestry Systems	2.00	6	134	26	22.33
Advances in Animal and Veterinary Sciences	0.22	6	46	26	7.67
Indian Journal of Animal Sciences	0.19	6	12	6	2.00
Small Ruminant Research	1.60	5	314	58	62.80
Indian Journal of Small Ruminants	-	5	6	13	1.20
Veterinary Practitioner	0.13	5	0	0	0.00
Animal Feed Science and Technology	2.50	3	205	27	68.33
Livestock Science	1.80	3	149	24	49.67
Frontiers in Veterinary Science	2.60	3	25	10	8.33
Indian Journal of Animal Research	0.5	3	8	8	2.67
Tropical Agriculture	0.20	3	7	0	2.33
Indian Journal of Animal Production and Management	-	3	1	4	0.33

TP: total publications; TP: total publications; TC: total citations; TLS: total link strength; MCP: mean citations per publication.

Regarding mean citations per publication, the most prominent journals were Meat Science (226.5), International Journal of Food Science and Technology (112.0), Animal (83.0), Animal Feed Science and Technology (68.3), and Small Ruminant Research (62.8). Journals published by Elsevier exhibited the highest mean citation rates per publication.

The dispersion of 166 publications across 93 journals highlights the broad thematic distribution of the scientific literature. Among the 15 leading journals, six had an impact factor below 1.0, and two did not present an impact factor. Together, these journals accounted for 37 of the 166 published articles on the topic.

Citation analysis of sources identified 93 journals. The minimum number of documents required for a source was set at two, and the minimum number of citations per source was set at one. A total of 28 journals met these thresholds out of the 93 identified sources. Visualization weighting in VOSviewer was alternately defined by the

number of documents (Figure 4a), total citations (Figure 4b), total link strength (Figure 4c), and temporal evolution of publications (Figure 4d). The maximum number of displayed lines was reduced from 1000 to 200 to improve network visualization clarity. Overall, six clusters, 95 links, and a total link strength of 153 were identified.

The clusters were distinguished by six different colors: red, green, blue, yellow, purple, and light blue. Tropical Animal Health and Production (red cluster) was the most productive journal, with nine published documents (Figure 4a). In terms of total citations, Meat Science (TC: 453) and Small Ruminant Research (TC: 314) showed the highest values (Figure 4b). The highest total link strength values were observed for Small Ruminant Research (TLS: 58), Animals (TLS: 52), and Tropical Animal Health and Production (TLS: 37) (Figure 4c). Temporal analysis revealed that Meat Science, Small Ruminant Research, Agroforestry Systems, and Animal Feed Science and Technology have not published new studies on the topic since 2012–2014, a pattern also observed for Livestock Research for Rural Development after 2012 (Figure 4d).

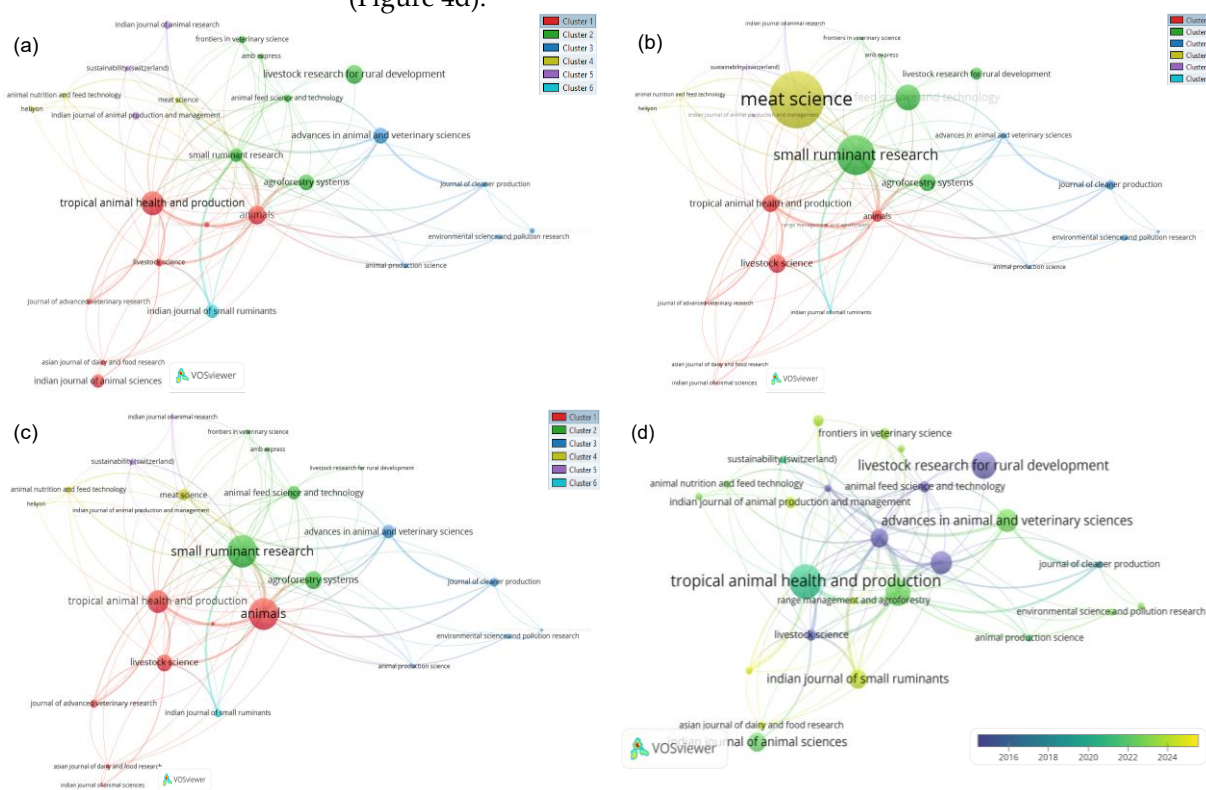


Figure 4. Citation analysis of journals contributing to research on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat studies, generated using VOSviewer software, considering journals with a minimum of two publications, according to (a) total number of documents, (b) total citations, (c) total link strength, and (d) temporal evolution of journal publications. Node size represents journal relevance within the network, colors indicate citation clusters, and line thickness reflects the strength of citation relationships among journals.

The bibliographic coupling analysis of sources identified, among the 93 journals, those with the highest degree of interconnection throughout the analyzed period. The minimum number of documents required for a source was set at two, and the minimum number of citations per source was set at one. A total of 28 sources met these thresholds out of the 93 identified journals. For each of the 28 journals, the total strength of bibliographic coupling links with other journals was calculated, and the journals with the highest total link strength were selected. In VOSviewer, the visualization weighting was changed from documents to citations. The minimum link strength was set to 20, and the maximum number of displayed lines was reduced from 1000 to 200 to improve network visualization clarity. Overall, four clusters, 294 links, and a total link strength of 2,397 were identified. The clusters were distinguished by four different colors: red, green, blue, and yellow (Figure 5).

The red cluster grouped journals with broad thematic coverage, including Meat Science (Elsevier), Tropical Animal Health and Production (Springer Nature), and Animals (MDPI), whose publications on *Moringa oleifera* encompass foliar antioxidants, meat and milk quality, semen cryopreservation, and methane mitigation in sheep and goats.

The green cluster included the three most influential Elsevier journals in the field: Small Ruminant Research, Animal Feed Science and Technology, and Livestock Science. The dominant thematic axis was the use of MO as an alternative protein source and modulator of ruminal fermentation, which is consistent with the higher mean citation rates per publication observed for these journals in the performance analysis.

The blue cluster, composed of Animal Production Science (CSIRO), Indian Journal of Small Ruminants, and Indian Journal of Animal Research, highlights the relative autonomy of South Asian scientific production within the field, with emphasis on dietary supplementation, productive parameters, and seminal quality in goats. This grouping is consistent with the low international link strength observed for India in the country-level analysis.

The yellow cluster includes the AMB Express (Springer Nature), Journal of Cleaner Production (Elsevier), and Environmental Science and Pollution Research (Springer Nature), journals associated with environmental science and biotechnology. Publications within this cluster focused on greenhouse gas mitigation and in vitro ruminal fermentation involving MO in ruminants. This grouping suggests that research on MO in small ruminants is expanding beyond the disciplinary boundaries of animal science, attracting audiences from sustainable livestock production and environmental engineering.

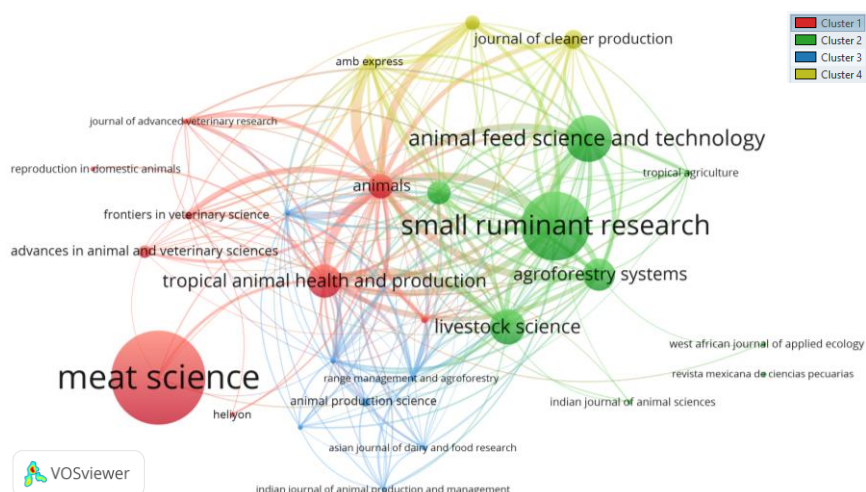


Figure 5. Bibliographic coupling network of journals publishing research on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat production systems. Each node represents a journal, node size reflects citation impact, colors indicate thematic clusters identified by VOSviewer, and line thickness represents the strength of bibliographic coupling between journals based on shared references. Journals positioned closer together exhibit greater thematic similarity and stronger intellectual connectivity within the field.

3.5. Authorship in Research on the Use of MO in Sheep and Goats

A total of 677 authors were identified in studies involving the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research. Temporal analysis of scientific production demonstrated an irregular distribution of author activity throughout the analyzed period, characterized by predominance of occasional publications and low annual recurrence (Figure 6).

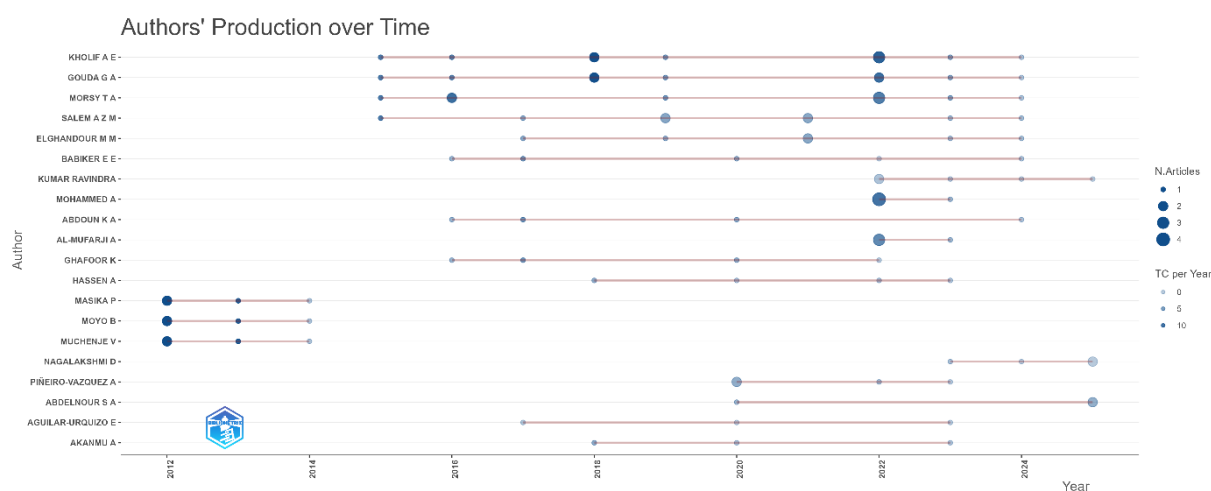


Figure 6. Temporal evolution of the scientific production of the most productive authors on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goats between 2000 and 2025, generated using the Bibliometrix package (Biblioshiny interface) in R software. Circle size represents annual publication volume, while color intensity reflects the temporal distribution of scientific productivity among authors.

A restricted group of authors, including A. E. Kholif, G. A. Gouda, and T. A. Morsy, showed greater publication consistency between 2018 and 2022. These authors concentrated the highest annual publication outputs, as indicated by the larger circles shown in Figure 6.

An increase in the number of active authors was also observed after 2020. More recent publications presented lower annual citation counts, a pattern associated with their shorter exposure time within the scientific literature.

A. E. Kholif and G. A. Gouda, both affiliated with the National Research Centre, were the most cited authors, with 525 and 518 citations, respectively. They were followed by P. J. Masika, B. Moyo, and V. Muchenje, all from the University of Fort Hare, with 492 citations each (Table 4).

Table 4. The 20 most cited authors in research on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat studies.

Authors	Country	Affiliation	H-Index ¹	TP	TC	FLT	MCP
Kholif A.E.	Egypt	National Research Centre	41	10	525	44	52.5
Gouda G.A.	Egypt	National Research Centre	13	9	518	40	57.6
Masika P.J.	South Africa	University of Fort Hare	28	3	492	10	164.0
Moyo B.	South Africa	University of Fort Hare	10	3	492	10	164.0
Muchenje V.	South Africa	University of Fort Hare	39	3	492	10	164.0
Oyedemi S.	South Africa	University of Fort Hare	18	2	454	8	227.0
Morsy T.A.	Egypt	National Research Centre	20	9	380	43	42.2
Salem A.Z.M.	Mexico	Universidad Autónoma del Estado de México	48	8	264	51	33.0
Anele U.Y.	United States	North Carolina Agricultural and Technical State University	23	3	219	11	73.0
Galyean M.L.	United States	Texas Tech University	48	3	219	11	73.0
Hugo A.	South Africa	University of Free State	31	1	202	5	202.0
Qwele K.	South Africa	University of Fort Hare	-	1	202	5	202.0
Verma A.K.	India	Central Institute for Research on Goats	18	3	148	15	49.3
Abdoun K.A.	Saudi Arabia	King Saud University	18	5	145	24	29.0
Babiker E.E.	Saudi Arabia	King Saud University	45	5	145	24	29.0
Olafadehan O.A.	Nigeria	University of Abuja	19	3	142	15	47.3
Ghafoor K.	Saudi Arabia	King Saud University	45	4	141	16	35.3
Kholif A.M.	Egypt	National Research Centre	15	2	141	7	70.5
Das A.K.	India	Indian Council of Agricultural Research	30	2	134	12	67.0
Rajkumar V.	India	Central Institute for Research on Goats	44	1	133	6	66.5

Global h-index for each author, based on Scopus profiles at the time of data extraction (January 10, 2026); TP: total publications; TC: total citations; TLS: total link strength; MCP: mean citations per publication.

The co-authorship analysis, considering authors with at least two publications, grouped researchers into five clusters. A. E. Kholif, G. A. Gouda, T. A. Morsy, and A. Z. M. Salem exhibited the strongest

collaboration links among authors. Co-authorship relationships were observed since the early years of research on *Moringa oleifera* in sheep and goats and remained active through 2025 (Figure 7a).

Most authors remained scientifically active in recent years, particularly researchers affiliated with Egyptian and Mexican institutions (Figure 7b).

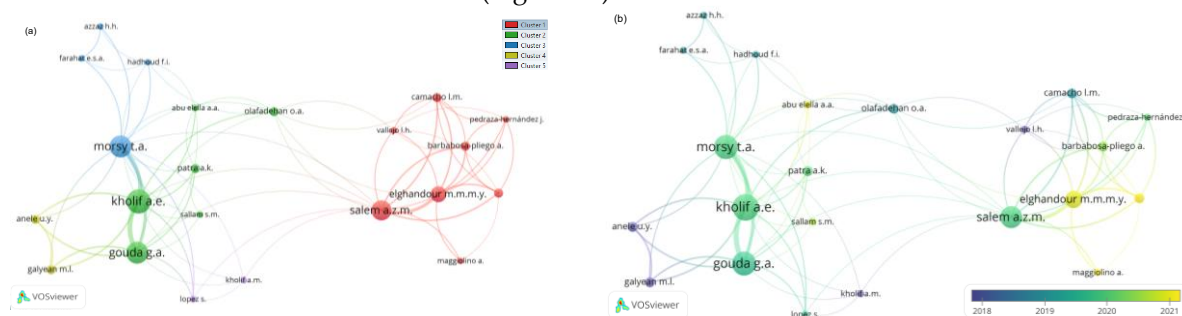


Figure 7. Co-authorship network of authors with a minimum of two publications on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research, generated using VOSviewer software. The network visualization illustrates collaborative relationships among authors based on average annual scientific production between 2000 and 2025. Node size represents author productivity, colors indicate collaboration clusters, and line thickness reflects the strength of co-authorship links between researchers (a, b).

The most cited articles are presented in Table 5. Studies investigating the antioxidant potential of *Moringa oleifera* leaves using aqueous and acetone extracts, as well as their application in goat diets, received the highest number of citations (252). These were followed by studies evaluating the antioxidant potential, chemical composition, and fatty acid profiles in meat from goats supplemented with MO leaves, sunflower cake, and grass hay, which collectively received 202 citations.

Table 5. Top 15 most cited articles on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research.

Authors	Journal	DOI	TC	MCP
[25]	Meat Sci	10.1016/j.meatsci.2012.02.029	252	19.3
[26]	Meat Sci	10.1016/j.meatsci.2012.11.009	202	16.8
[10]	Small Ruminant Res	10.1016/j.smallrumres.2015.05.007	129	12.9
[27]	IJFST	10.1111/j.1365-2621.2011.02881.x	119	9.1
[28]	Anim Feed Sci Tech	10.1016/j.anifeedsci.2016.04.012	102	11.3
[29]	Animal	10.1017/S1751731117002336	87	12.4
[8]	Small Ruminant Res	10.1016/S0921-4488(02)00178-5	78	3.4
[30]	Livest Sci	10.1016/j.livsci.2016.11.010	76	9.5
[11]	Small Ruminant Res	10.1016/j.smallrumres.2017.1	64	9.1

			0.014	
[31]	Livest Sci	10.1016/j.livsci.2015.07.011	63	6.3
[32]	Int. J. Vet. Sci. Med.	10.1016/j.ijvsm.2017.02.001	58	7.2
[12]	Anim Feed Sci Tech	10.1016/j.anifeedsci.2017.11.021	55	7.8
[33]	Agrofor. Syst	10.1007/s10457-018-0292-9	53	8.8
[34]	Agrofor. Syst	10.1023/A:1021396629613	51	2.2
[9]	Anim Feed Sci Tech	10.1016/j.anifeedsci.2008.07.007	50	3.1

TC: total citations; MCA: mean citations per publication per year.

Research involving MO leaf meal as a protein source for lactating goats received 129 citations. Studies examining the use of MO leaf extract as a natural antioxidant to reduce lipid peroxidation in cooked goat meat hamburgers recorded 119 citations. In addition, investigations evaluating MO leaf meal in goat diets accumulated 102 citations, completing the five most cited studies in the field.

3.6. Author Co-Citation Network in Research on the Use of MO in Sheep and Goats

The author co-citation network presented a total link strength (TLS) of 52,639, considering authors with a minimum of 30 citations. Under this criterion, 26 authors reached the established threshold and were distributed into four distinct clusters (Figure 8).

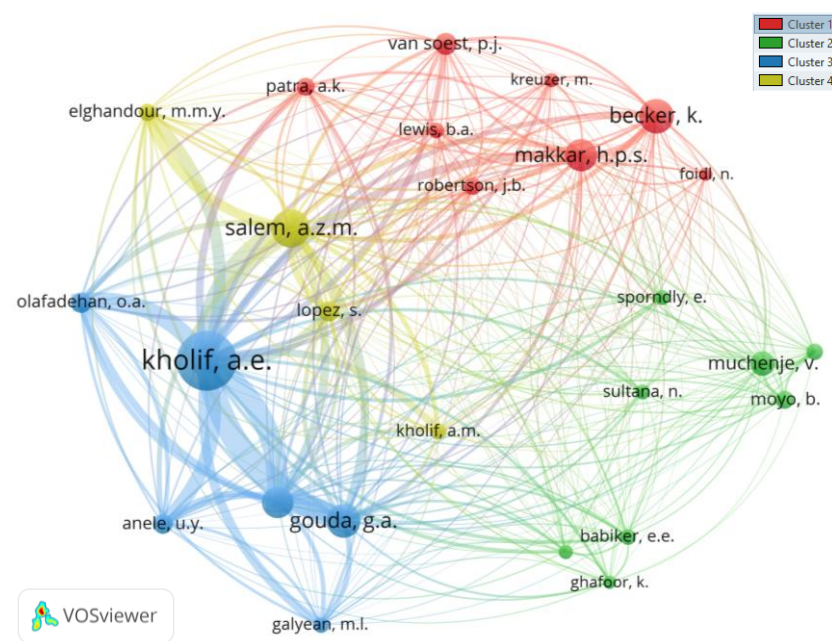


Figure 8. Author co-citation network considering a minimum threshold of 30 citations in research on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goats, generated using VOSviewer software. Node size represents the citation relevance of each author, colors indicate co-citation clusters, and line thickness reflects the strength of co-citation relationships between authors within the scientific network.

Among the most co-cited authors, A. E. Kholif (cluster 3, blue), A. Z. M. Salem (cluster 4, yellow), H. P. S. Makkar (cluster 1, red), and V. Muchenje (cluster 2, green) were the most prominent co-cited authors. The strongest link was observed between A. E. Kholif and A. Z. M. Salem (TLS = 655).

The distribution of authors across different clusters demonstrates the existence of multiple thematic nuclei within the literature on *Moringa oleifera* applied to sheep and goat production. Despite the relatively small number of highly co-cited authors, a high degree of connectivity was observed among the leading researchers in the field.

3.7. Co-Occurrence Analysis of Author Keywords on the Use of MO in Sheep and Goat Production

Among the 370 keywords identified in the literature, 25 reached the minimum threshold of six occurrences (Figure 9a). The analysis resulted in a total link strength (TLS) of 3,336, with “*Moringa oleifera*” presenting the highest TLS value (312). Other prominent keywords included digestibility (25), growth performance (23), goat (21), rumen fermentation (16), antioxidant (15), *Moringa* (14), blood metabolites (13), sheep (11), milk (10), and anthelmintic (10) (Supplementary Table S1).

The most frequent keywords became more prominent after 2015. Terms such as antimicrobial, anthelmintic, cryopreservation, methane production, ram, and *Moringa oleifera* leaf extract showed greater occurrence from 2020 onward (Figure 9b).

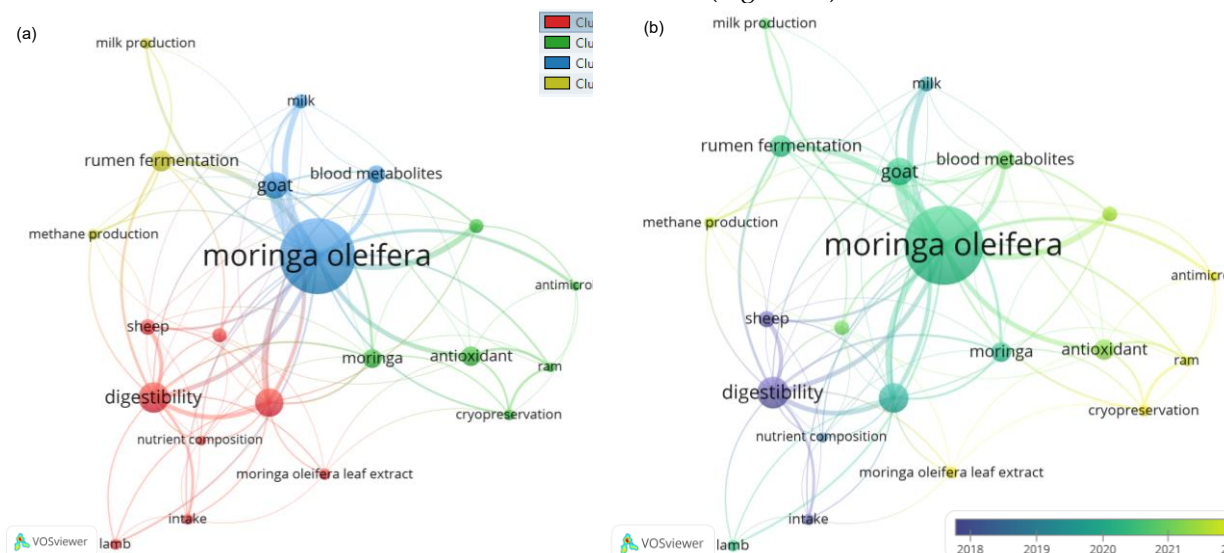


Figure 9. Network visualization of author keywords with a minimum threshold of six co-occurrences (a) and overlay visualization with temporal trend analysis (b) in publications related to the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research, generated using VOSviewer software. Node size represents keyword occurrence frequency, colors indicate thematic clusters or average publication year, and line thickness reflects the strength of co-occurrence relationships among keywords within the scientific literature.

The results demonstrated a predominance of studies related to animal nutrition, productive performance, ruminal metabolism, physiological parameters, and the antioxidant and antimicrobial effects of the plant. Keywords such as digestibility, growth performance, and rumen fermentation were mainly associated with studies on feed efficiency and ruminal fermentation, whereas antioxidant, blood metabolites, and anthelmintic were linked to functional and therapeutic investigations.

The keywords were grouped into four distinct clusters (Figure 9a), defined based on relativity and similarity indices, as detailed in Table 6.

Table 6. Main keywords, clusters, and research themes related to the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat studies.

Cluster	Color	Main Keywords	Related Research Studies	Main Authors
1	Red	<i>digestibility, growth performance, intake, lamb, moringa oleifera leaf extract, nutrient composition, sheep, small ruminants</i>	Use of <i>Moringa oleifera</i> leaf extracts or silage on feed intake, digestibility, nutrient utilization, productive performance, meat tenderness, and fatty acid composition in lambs and goats. [9], [35], [36], [25, 37], [7]	
2	Green	<i>anthelmintic, antioxidant, moringa, ram</i>	<i>antimicrobial, cryopreservation,</i> Bioactive effects of MO leaves on fresh and cryopreserved semen characteristics, antioxidant activity, antimicrobial effects, and anthelmintic properties. [32], [38], [39], [40, 41], [42], [43]	
3	Blue	<i>blood metabolites, goat, milk, moringa oleifera</i>	Effects of leaf extracts on plasma and milk biochemical indicators, milk production, milk composition and fatty acid profile in goats, as well as blood parameters, production, composition, and fatty acid profile in sheep. [44], [45], [46], [33], [10], [47], [48]	
4	Yellow	<i>methane production, rumen fermentation</i>	Modulatory effects of MO on thermal tolerance parameters, lactation performance, ruminal fermentation, and enteric methane emissions in sheep and goats. [49], [30], [50], [51], [52]	

Cluster one (red) concentrated terms related to the use of leaf extracts or silage of *Moringa oleifera* and their effects on digestibility, productive performance, carcass characteristics, meat quality, and fatty acid composition in goats and lambs.

Cluster two (green) included studies associated with the antioxidant and anthelmintic effects of *Moringa oleifera*, as well as its applications in cryopreservation, semen quality, and reproductive performance of small ruminants.

Cluster three (blue) grouped keywords related to the bioactive compounds present in *Moringa oleifera* leaves and seeds and their effects on milk production, milk composition, fatty acid profiles, and blood parameters in sheep and goats.

Cluster four (yellow) was associated with the use of the plant as a feed additive, ruminal fermentation, greenhouse gas emissions, and methane production in sheep and goat systems.

4. Discussion

To the best of our knowledge, this is the first bibliometric analysis focused exclusively on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goats. The marked growth observed after 2020, with 72.9% of publications concentrated within the last five years, is consistent with the expansion pattern documented in broader bibliometric analyses of MO [53–56], in which scientific production also accelerated during the 2020s, partly driven by the increasing demand for sustainable alternatives to conventional feed additives and antibiotic growth promoters [12, 57].

India's leadership in publication volume (44 articles; 26.5% of the total), combined with a low mean citation rate per publication (9.05 MCP) and limited international collaboration strength (TLS = 10), reflects a pattern reported in other agricultural science fields: high regional productivity with limited integration into global scientific networks [58]. In contrast, Egypt accumulated the highest total citations (832 TC) and the strongest international collaboration links (TLS = 25), largely driven by the National Research Centre, which alone accounted for 21 articles and 672 citations. This pattern can be largely attributed to the prolific and collaborative output of A. E. Kholif and G. A. Gouda. South Africa, despite contributing only ten publications, exhibited the second-highest mean citation rate per publication (59.20 MCP) and almost no international collaboration (TLS = 1), indicating that the contributions of P. J. Masika, B. Moyo, and V. Muchenje exert disproportionate influence relative to the size of the group, although remaining relatively isolated from broader international co-production networks.

The dispersion of publications across 93 journals, of which 65 published only a single article on the topic, indicates regionalization and low consolidation of the field. The predominance of low-impact journals among the most productive outlets, six of the fifteen leading journals had an impact factor below 1.0, and two lacked Journal Citation Reports indexing, suggests that much of the scientific production has not yet reached high-impact international audiences. In contrast, Elsevier journals such as *Meat Science*, *Small Ruminant Research*, and *Animal Feed Science and Technology*, despite publishing relatively few articles on the specific topic, accumulated the highest mean citation rates (226.5, 62.8, and 68.3 MCP, respectively), reinforcing the well-established association between editorial prestige and citation accumulation [59], although this relationship is not strictly linear. The editorial inactivity observed in these high-impact journals since 2012–2014, contrasted with the sharp increase in publications in lower-impact journals after 2020, may indicate both a geographic democratization of scientific production and may suggest heterogeneous methodological quality among recent publications, a hypothesis that requires complementary qualitative investigation.

The bibliographic coupling analysis of sources complements this perspective by revealing that the 28 journals with sufficient interconnection to form networks were grouped into four clusters with

distinct thematic profiles. The red cluster, led by Meat Science, Tropical Animal Health and Production, and Animals, concentrated studies on antioxidants, meat and milk quality, semen cryopreservation, and methane mitigation, reflecting the thematic diversity of widely circulated journals in the field. The green cluster, composed of Small Ruminant Research, Animal Feed Science and Technology, and Livestock Science, grouped the most prestigious Elsevier journals in the field, whose dominant thematic axis was the use of MO as a protein source and modulator of ruminal fermentation in sheep and goats, consistent with their higher mean citation rates identified in the performance analysis. The blue cluster, formed predominantly by South Asian journals such as Indian Journal of Small Ruminants and Indian Journal of Animal Research, together with Animal Production Science, highlighted the relative autonomy of South Asian scientific production within the field, focusing on nutrition, productive performance, and seminal quality, a pattern consistent with India's low international link strength identified in the country analysis. The yellow cluster, integrating AMB Express, Journal of Cleaner Production, and Environmental Science and Pollution Research, signaled the emergence of MO as a topic of interest within environmental science and biotechnology journals, particularly in the context of greenhouse gas mitigation. This pattern suggests that research involving MO in small ruminants is expanding beyond the traditional disciplinary boundaries of animal science, attracting audiences from environmental engineering and agricultural sustainability, thereby increasing the field's potential impact and visibility while also requiring attention to maintain the methodological rigor characteristic of experimental animal studies.

This thematic dissemination structure is partially shaped by the trajectories of the field's most influential authors. V. Muchenje is the only author in the present analysis who also appears among the most cited researchers in broader bibliometric analyses of MO [54–56, 60, 61], reflecting his pioneering contributions, together with P. J. Masika and B. Moyo, to foundational studies on the nutritional composition of MO leaves and their effects on meat quality and hepatic metabolism in goats [25, 37]. The fact that all five of the most cited articles involved goats and were published between 2011 and 2016 indicates that this species served as the preferred experimental model during the early stages of the field, contrasting with the more recent expansion of studies involving sheep after 2015. A. E. Kholif, in turn, exhibited the highest total link strength among co-cited authors (TLS = 44) and the highest scientific output within the corpus (10 original articles), with systematic contributions involving leaf extracts and leaf meal supplementation in dairy goats [10, 11, 28, 29, 33, 47], which explains his central position within the co-authorship and co-citation networks identified in this study.

The keyword co-occurrence analysis revealed that the field is structured around five dominant thematic axes: digestibility, growth performance, rumen fermentation, antioxidant, and blood metabolites,

which collectively accounted for the highest frequencies and link strengths. The recent emergence of terms such as cryopreservation, ram, semen quality, methane production, and moringa oleifera leaf extract, gaining prominence after 2020, indicates the expansion of the field toward reproductive biology and enteric methane mitigation as emerging research lines. In reproductive studies, eleven articles have been published since 2020 [39, 42, 62–70], focusing on the effects of leaf extracts on semen cryopreservation in rams and bucks. Regarding methane mitigation, the available studies indicate promising potential; however, the existing in vitro findings still require robust in vivo validation [50, 57, 71, 72], and the heterogeneity of experimental protocols—including differences in plant parts, solvents, concentrations, and administration methods—limits direct comparisons among studies [12, 13].

The present study is limited by the exclusive use of the Scopus database and English-language publications, which may have excluded regionally indexed studies and non-English scientific outputs.

Important gaps remain and deserve priority attention, including the absence of economic impact analyses regarding the use of MO in small ruminant production systems; the scarcity of long-term in vivo studies in sheep; the lack of standardization in extraction and dosage protocols; and the absence of data concerning the microbiological safety of MO-enriched animal products. *Moringa oleifera* has already demonstrated, as a feed additive, effects comparable to monensin in sheep studies [12, 13], the ability to partially replace conventional concentrates in goats [10, 11, 28, 29], as well as promising anthelmintic activity against prevalent gastrointestinal parasites in small ruminants [32, 73–75]. Nevertheless, the consolidation of this body of evidence into practical recommendations depends on addressing the methodological gaps identified herein, particularly regarding the standardization of dosages and preparation methods as prerequisites for future multicenter comparative studies.

5. Conclusions

The present bibliometric analysis demonstrates that scientific production on *Moringa oleifera* in sheep and goat research, although numerically modest compared with the broader MO literature, has expanded markedly since 2020, with 72.9% of the 166 identified articles published within the last five years. India leads in publication volume, although with limited international collaboration and relatively low citation impact, whereas Egyptian authors and institutions, particularly the National Research Centre, dominate both productivity and citation networks. Publications are dispersed across 93 journals, many of which have low impact factors and limited interconnectivity, a pattern that may reduce the visibility and integration of the field.

The bibliographic coupling analysis of sources identified four thematic clusters reflecting both the consolidation of Elsevier animal

science journals as central dissemination channels and the emergence of environmental science and biotechnology journals as new outlets, highlighting the interdisciplinary expansion of research on MO in small ruminants. Keyword clustering revealed animal nutrition and productive performance as the predominant research domains, with clear recent growth in reproductive biology, enteric methane mitigation, and the quality of meat and dairy products. Notably, all five of the most cited articles in the corpus involved goats and were published between 2011 and 2016, indicating that goats served as the preferred experimental model during the early stages of the field, contrasting with the recent expansion of sheep studies observed after 2015.

Important gaps remain regarding economic impact analyses, long-term in vivo studies in sheep, methodological standardization of plant preparation and dosage protocols, and the microbiological safety of animal products enriched with MO. Addressing these gaps will be essential for consolidating *Moringa oleifera* as a nutritionally validated and operationally viable resource in sheep and goat production systems.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/doi/s1>, Figure S1: Publication areas related to the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research; Table S1: The 15 most frequent keywords in the literature on the use of *Moringa oleifera* in sheep and goat research.

Author Contributions: Conceptualization, G.V-B., T.F. and F.V.J.; methodology, G.V-B; software, G.V-B.; validation, G.V-B, T.F. E.G and F.V.J.; formal analysis, G.V-B.; investigation, G.V-B, B.R., A.S., N.A, R.S.; data curation, G.V-B.; writing—original draft preparation, G.V-B; writing—review and editing, G.V-B., N.S and F.V.J.; visualization, G.V-B.; supervision, F.V.J. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel - CAPES (Scholarship and PROAP; PDPG-Consolidação 3-4, Processo nº 88881.745570/2022-01); the Foundation for the Support of Education, Science, and Technology Development in the State of Mato Grosso do Sul - FUNDECT (PDPG Centro-Oeste, Processo Nº 83/035.027/2024, FUNDECT Projeto TO Nº 274/2024, SIAFIC Nº 1481; PDPG Estados FUNDECT Projeto TO Nº 133/2023, SIAFEM Nº 33108); National Council for Scientific and Technological Development - CNPQ (PQ Researcher).

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Acknowledgments: The authors thank the Ovinotecnia research group and the SISPEC network (Network of Smart and Sustainable Livestock Systems, funded by CYTED ref. 125RT0167).

Conflicts of Interest: The authors declare no competing interest.

References

1. Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A.H.: *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research*. 21, 17–25 (2007). <https://doi.org/10.1002/ptr.2023>
2. Mahaveerchand, H., Abdul Salam, A.A.: Environmental, industrial, and health benefits of *Moringa oleifera*. *Phytochemistry Reviews*. 23, 1497–1556 (2024). <https://doi.org/10.1007/s11101-024-09927-x>
3. Makkar, H.P.S., Becker, K.: Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *J. Agric. Sci.* 128, 311–322 (1997). <https://doi.org/10.1017/S0021859697004292>
4. Makkar, H.P.S., Becker, K.: Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 63, 211–228 (1996). [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(96\)01023-1](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(96)01023-1)
5. Soliva, C.R., Kreuzer, M., Foidl, N., Foidl, G., Machmüller, A., Hess, H.D.: Feeding value of whole and extracted *Moringa oleifera* leaves for ruminants and their effects on ruminal fermentation in vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.* 118, 47–62 (2005). <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.10.005>
6. Reyes Sánchez, N., Spörndly, E., Ledin, I.: Effect of feeding different levels of foliage of *Moringa oleifera* to creole dairy cows on intake, digestibility, milk production and composition. *Livest. Sci.* 101, 24–31 (2006). <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.09.010>
7. Webb, E.C., Hassen, A., Olaniyi, M.O., Pophiwa, P.: Effect of Dietary Inclusion of *Azadirachta indica* and *Moringa oleifera* Leaf Extracts on the Carcass Quality and Fatty Acid Composition of Lambs Fed High Forage Total Mixed Rations. *Animals*. 12, 2039 (2022). <https://doi.org/10.3390/ani12162039>
8. Aregheore, E.M.: Intake and digestibility of *Moringa oleifera*–batiki grass mixtures by growing goats. *Small Rumin. Res.* 46, 23–28 (2002). [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(02\)00178-5](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00178-5)
9. Ben Salem, H., Makkar, H.P.S.: Defatted *Moringa oleifera* seed meal as a feed additive for sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 150, 27–33 (2009). <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.07.007>
10. Kholif, A.E., Gouda, G.A., Morsy, T.A., Salem, A.Z.M., Lopez, S., Kholif, A.M.: *Moringa oleifera* leaf meal as a protein source in lactating goat's diets: Feed intake, digestibility, ruminal fermentation, milk yield and composition, and its fatty acids profile. *Small Rumin. Res.* 129, 129–137 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.05.007>
11. Kholif, A.E., Gouda, G.A., Anele, U.Y., Galyean, M.L.: Extract of *Moringa oleifera* leaves improves feed utilization of lactating Nubian goats. *Small Rumin. Res.* 158, 69–75 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.10.014>
12. Soltan, Y.A., Hashem, N.M., Morsy, A.S., El-Azrak, K.M., El-Din, A.N., Sallam, S.M.: Comparative effects of *Moringa oleifera* root bark and monensin supplementations on ruminal fermentation, nutrient digestibility and growth performance of growing lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 235, 189–201 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.021>
13. Preez, D.A. Du, Akanmu, A.M., Adejoro, F.A., Hassen, A.: The Effect of Monensin vs. Neem, and *Moringa* Extracts on Nutrient Digestibility, Growth Performance, Methane, and Blood Profile of Merino Lambs. *Animals*. 13, 3514 (2023). <https://doi.org/10.3390/ani13223514>
14. Donthu, N., Kumar, S., Mukherjee, D., Pandey, N., Lim, W.M.: How to conduct a bibliometric analysis: An overview and guidelines. *J. Bus. Res.* 133, 285–296 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2021.04.070>
15. van Eck, N.J., Waltman, L.: Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. *Scientometrics*. 84, 523–538 (2010). <https://doi.org/10.1007/s11192-009-0146-3>
16. McManus, C., Pimentel, F., Ferraz, J.B.S., Núñez-Domínguez, R., Guimarães, R.F., Pimentel, D., da Gama, L.T., Costa, N. da S., Peripolli, V.: Mapping the composite cattle worldwide using bibliometric analysis. *Livest. Sci.* 290, 105593 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2024.105593>

17. Abdul, S., Gul, Z., Xu, M.: Tracing the contribution of cattle farms to methane emissions through bibliometric analyses. *J. Integr. Agric.* 24, 1220–1233 (2025). <https://doi.org/10.1016/j.jia.2024.05.003>
18. Singh, V.K., Singh, P., Karmakar, M., Leta, J., Mayr, P.: The journal coverage of Web of Science, Scopus and Dimensions: A comparative analysis. *Scientometrics*. 126, 5113–5142 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11192-021-03948-5>
19. Page, M.J., McKenzie, J.E., Bossuyt, P.M., Boutron, I., Hoffmann, T.C., Mulrow, C.D., Shamseer, L., Tetzlaff, J.M., Akl, E.A., Brennan, S.E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J.M., Hróbjartsson, A., Lalu, M.M., Li, T., Loder, E.W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., McGuinness, L.A., Stewart, L.A., Thomas, J., Tricco, A.C., Welch, V.A., Whiting, P., Moher, D.: The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. n71 (2021). <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>
20. Vieira, R.A., McManus, C.: Bibliographic mapping of animal genetic resources and climate change in farm animals. *Trop. Anim. Health Prod.* 55, 259 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11250-023-03671-8>
21. Ma, L., Ma, J., Teng, M., Li, Y.: Visual Analysis of Colorectal Cancer Immunotherapy: A Bibliometric Analysis From 2012 to 2021. *Front. Immunol.* 13, (2022). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.843106>
22. van Eck, N.J., Waltman, L.: Citation-based clustering of publications using CitNetExplorer and VOSviewer. *Scientometrics*. 111, 1053–1070 (2017). <https://doi.org/10.1007/s11192-017-2300-7>
23. Naciti, V., Cesaroni, F., Pulejo, L.: Corporate governance and sustainability: a review of the existing literature. *Journal of Management and Governance*. 26, 55–74 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10997-020-09554-6>
24. Aria, M., Cuccurullo, C.: bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *J. Informetr.* 11, 959–975 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.joi.2017.08.007>
25. Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P.J., Muchenje, V.: Polyphenolic content and antioxidant properties of Moringa oleifera leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with Moringa oleifera leaves/sunflower seed cake. *Meat Sci.* 91, 441–447 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.029>
26. Qwele, K., Hugo, A., Oyedemi, S.O., Moyo, B., Masika, P.J., Muchenje, V.: Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with Moringa (Moringa oleifera) leaves, sunflower cake and grass hay. *Meat Sci.* 93, 455–462 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.009>
27. Das, A.K., Rajkumar, V., Verma, A.K., Swarup, D.: *Moringa oleifera* leaves extract: a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in cooked goat meat patties. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47, 585–591 (2012). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02881.x>
28. Kholif, A.E., Morsy, T.A., Gouda, G.A., Anele, U.Y., Galyean, M.L.: Effect of feeding diets with processed Moringa oleifera meal as protein source in lactating Anglo-Nubian goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* 217, 45–55 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.04.012>
29. Kholif, A.E., Gouda, G.A., Olafadehan, O.A., Abdo, M.M.: Effects of replacement of Moringa oleifera for berseem clover in the diets of Nubian goats on feed utilisation, and milk yield, composition and fatty acid profile. *Animal*. 12, 964–972 (2018). <https://doi.org/10.1017/S1751731117002336>
30. Babiker, E.E., Juhaimi, F.A.L., Ghafoor, K., Abdoun, K.A.: Comparative study on feeding value of Moringa leaves as a partial replacement for alfalfa hay in ewes and goats. *Livest. Sci.* 195, 21–26 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.11.010>
31. Pal, K., Patra, A.K., Sahoo, A., Kumawat, P.K.: Evaluation of several tropical tree leaves for methane production potential, degradability and rumen fermentation in vitro. *Livest. Sci.* 180, 98–105 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.07.011>

32. Cabardo, D.E., Portugaliza, H.P.: Anthelmintic activity of *Moringa oleifera* seed aqueous and ethanolic extracts against *Haemonchus contortus* eggs and third stage larvae. *Int. J. Vet. Sci. Med.* 5, 30–34 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2017.02.001>
33. Kholif, A.E., Gouda, G.A., Galyean, M.L., Anele, U.Y., Morsy, T.A.: Extract of *Moringa oleifera* leaves increases milk production and enhances milk fatty acid profile of Nubian goats. *Agroforestry Systems*. 93, 1877–1886 (2019). <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0292-9>
34. Sarwatt, S.V., Kapange, S.S., Kakengi, A.M.V.: Substituting sunflower seed-cake with *Moringa oleifera* leaves as a supplemental goat feed in Tanzania. *Agroforestry Systems*. 56, 241–247 (2002). <https://doi.org/10.1023/A:1021396629613>
35. Cohen-Zinder, M., Orlov, A., Trofimiyuk, O., Agmon, R., Kabiya, R., Shor-Shimoni, E., Wagner, E.K., Hussey, K., Leibovich, H., Miron, J., Shabtay, A.: Dietary supplementation of *Moringa oleifera* silage increases meat tenderness of Assaf lambs. *Small Rumin. Res.* 151, 110–116 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.04.021>
36. Jadhav, R. V., Chaudhary, L.C., Agarwal, N., Kamra, D.N.: Influence of *Moringa oleifera* foliage supplementation on feed intake, rumen fermentation and microbial profile of goats. *Indian J. Anim. Sci.* 88, 458–462 (2018). <https://doi.org/10.56093/ijans.v88i4.78814>
37. Moyo, B., Masika, P.J., Muchenje, V.: Effect of supplementing crossbred Xhosa lop-eared goat castrates with *Moringa oleifera* leaves on growth performance, carcass and non-carcass characteristics. *Trop. Anim. Health Prod.* 44, 801–809 (2012). <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9970-6>
38. Barakat, I.A.H., Khalil, W.K.B., Al-Himaidi, A.R.: *Moringa oleifera* extract modulates the expression of fertility related genes and elevation of calcium ions in sheep oocytes. *Small Rumin. Res.* 130, 67–75 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.06.011>
39. Liang, J., Wu, T., Wang, T., Ma, Y., Li, Y., Zhao, S., Guo, Y., Liu, B.: *Moringa oleifera* leaf ethanolic extract benefits cashmere goat semen quality via improving rumen microbiota and metabolome. *Front. Vet. Sci.* 10, (2023). <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1049093>
40. Morsy, T.A., Hadhoud, F.I., Kholif, A.E., Abu Elella, A.A., Olafadehan, O.A.: Potential of *Moringa oleifera* silage to replace concentrate feed mixture in diet of lactating Damascus goats. *Annals of Animal Science*. 22, 1373–1383 (2022). <https://doi.org/10.2478/aoas-2022-0058>
41. Morsy, T.A., Gouda, G.A., Kholif, A.E.: In vitro fermentation and production of methane and carbon dioxide from rations containing *Moringa oleifera* leave silage as a replacement of soybean meal: in vitro assessment. *Environ. Sci. and Pollut. Res.* 29, 69743–69752 (2022). <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20622-2>
42. Shokry, D.M., Badr, M.R., Orabi, S.H., Khalifa, H.K., El-Seedi, H.R., Abd Eldaim, M.A.: *Moringa oleifera* leaves extract enhances fresh and cryopreserved semen characters of Barki rams. *Theriogenology*. 153, 133–142 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.04.007>
43. Pedraza-Hernández, J., Elghandour, M.M.M.Y., Khusro, A., Salem, M.Z.M., Camacho-Diaz, L.M., Barbabosa-Pliego, A., Salem, A.Z.M.: Assessment on bioactive role of *Moringa oleifera* leaves as anthelmintic agent and improved growth performance in goats. *Trop. Anim. Health Prod.* 53, 318 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02745-9>
44. Al-Juhaimi, F.Y., Alsawmahi, O.N., Abdoun, K.A., Ghafoor, K., Babiker, E.E.: Antioxidant potential of *Moringa* leaves for improvement of milk and serum quality of Aardi goats. *South African Journal of Botany*. 129, 134–137 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.03.022>

45. Afzal, A., Hussain, T., Hameed, A., Shahzad, M., Mazhar, M.U., Yang, G.: Dietary *Moringa oleifera* Alters Periparturient Plasma and Milk Biochemical Indicators and Promotes Productive Performance in Goats. *Front. Vet. Sci.* 8, (2022). <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.787719>
46. Afzal, A., Hussain, T., Hameed, A.: *Moringa oleifera* Supplementation Improves Antioxidant Status and Biochemical Indices by Attenuating Early Pregnancy Stress in Beetal Goats. *Front. Nutr.* 8, (2021). <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.700957>
47. Kholif, A.E., Gouda, G.A., Abu Elella, A.A., Patra, A.K.: Replacing the Concentrate Feed Mixture with *Moringa oleifera* Leaves Silage and *Chlorella vulgaris* Microalgae Mixture in Diets of Damascus Goats: Lactation Performance, Nutrient Utilization, and Ruminal Fermentation. *Animals.* 12, 1589 (2022). <https://doi.org/10.3390/ani12121589>
48. Mufarji, A. Al, Mohammed, A.E.-N.A., Al Zeidi, R., Al Masruri, H.: Modulation Impacts of *Moringa oleifera* on Thermo Tolerance Parameters and Blood Indices in Subtropical Ewes under Heat Stress. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 10, (2022). <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2022/10.7.1641.1648>
49. Al-Mufarji, A., Al-Suwaiegh, S., Mohammed, A.E.-N.: Influence of Organic *Moringa oleifera* Leaves Supplemented during Gestation and Lactation Periods: Modulation of Production Efficiency, Blood and Metabolic Parameters of Ewes and Lambs in Subtropics. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 11, (2023). <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2023/11.3.385.393>
50. Leitanthem, V.K., Chaudhary, P., Maiti, S., Mohini, M., Mondal, G.: Impact of *Moringa oleifera* Leaves on Nutrient Utilization, Enteric Methane Emissions, and Performance of Goat Kids. *Animals.* 13, 97 (2022). <https://doi.org/10.3390/ani13010097>
51. Leitanthem, V.K., Chaudhary, P., Bhakat, M., Mohini, M., Mondal, G.: Impact of *Moringa oleifera* on rumen fermentation and methane emission under in vitro condition. *AMB Express.* 12, 141 (2022). <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01480-0>
52. Olvera-Aguirre, G., Mendoza-Taco, M.M., Arcos-Álvarez, D.N., Piñeiro-Vázquez, A.T., Moo-Huchin, V.M., Canul-Solís, J.R., Castillo-Sánchez, L., Ramírez-Bautista, M.A., Vargas-Bello-Pérez, E., Chay-Canul, A.J.: Effect of Feeding Lactating Ewes with *Moringa oleifera* Leaf Extract on Milk Yield, Milk Composition and Preweaning Performance of Ewe/Lamb Pair. *Animals.* 10, 1117 (2020). <https://doi.org/10.3390/ani10071117>
53. Dou, H., Kister, J.: Research and development on *Moringa Oleifera* – Comparison between academic research and patents. *World Patent Information.* 47, 21–33 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.wpi.2016.09.001>
54. George, T.T., Obilana, A.O., Oyenih, A.B., Rautenbach, F.G.: *Moringa oleifera* through the years: a bibliometric analysis of scientific research (2000-2020). *South African Journal of Botany.* 141, 12–24 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.04.025>
55. Okaiyeto, K., Oguntibeju, O.O.: A Web of Science-based Analysis of Global Research Trends on <i>Moringa oleifera</i> from 2010 – 2019. *Journal of Natural Remedies.* 333–349 (2021). <https://doi.org/10.18311/jnr/2021/26542>
56. Arbab, A.A.I., Musa, T.H., Musa, H.H., Idris, A.A., Omer, E.A.M., Oderinde, O.K., Akintunde, Y.T.: Mapping of Global 100 Top-cited Articles on *Moringa oleifera* Lam. from Documents Indexed in Web of Sciences Database. *Trop. J. of Nat. Prod. Res.* 6, 1778–1789 (2022)
57. Amad, A.A., Zentek, J.: The use of *Moringa oleifera* in ruminant feeding and its contribution to climate change mitigation. *Front. Anim. Sci.* 4, (2023). <https://doi.org/10.3389/fanim.2023.1137562>
58. Saleh, A.Y., Saputra, D.A.Y., Valentina, R., Susanto, T.D.: The Miracle *Moringa Oleifera* Tree: A Bibliometric Review of Its Neuroprotective Properties. *Pharmacognosy Journal.* 17, 258–276 (2025). <https://doi.org/10.5530/pj.2025.17.33>

59. Lozano, G.A., Larivière, V., Gingras, Y.: The weakening relationship between the impact factor and papers' citations in the digital age. *J. Am. Soc. Inf. Sci. Technol.* 63, 2140–2145 (2012). <https://doi.org/10.1002/asi.22731>
60. BM Gupta, G., Ahmed, K.M.: *Moringa Oleifera*: A Bibliometric Analysis of India's Publications During 1980-2019. *J. Young Pharm.* 12, 207–214 (2020). <https://doi.org/10.5530/jyp.2020.12.62>
61. Gupta, B., Ahmed, K.K.: *Moringa oleifera*: A Bibliometric Analysis of International Publications during 1935-2019. *Pharmacogn. Rev.* 14, 82–90 (2020). <https://doi.org/10.5530/phrev.2020.14.12>
62. Ismail, R.F.S.A., Khalil, W.A., Grawish, S.I., Mahmoud, K.Gh.M., Abdelnour, S.A., Gad, A.M.A.: Putative effects of moringa oil or its nano-emulsion on the growth, physiological responses, blood health, semen quality, and the sperm antioxidant-related genes in ram. *BMC Vet. Res.* 21, 11 (2025). <https://doi.org/10.1186/s12917-024-04444-7>
63. Carrera-Chávez, J.M., Jiménez-Aguilar, E.E., Acosta-Pérez, T.P., Núñez-Gastélum, J.A., Quezada-Casasola, A., Escárcega-Ávila, A.M., Itza-Ortiz, M.F., Orozco-Lucero, E.: Effect of *Moringa oleifera* seed extract on antioxidant activity and sperm characteristics in cryopreserved ram semen. *J. Appl. Anim. Res.* 48, 114–120 (2020). <https://doi.org/10.1080/09712119.2020.1741374>
64. Shokry, D.M., Abd Eldaim, M.A., Badr, M.R., Khalifa, H.K., Orabi, S.H., Hassan, A.M., Dohreig, R.: Enhancement impact of *Moringa oleifera* leaves extract–base extender on cryopreservation and fertilization of Barki ram sperms: comparative study with vitamin E and selenium combination. *Ital. J. Anim. Sci.* 20, 1175–1186 (2021). <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1953411>
65. Kamel, A.M., Abd El-Hamid, I.S., Khalifa, M., Shaker, Y.M., Rateb, S.A.: Influence of incorporating L-carnitine or *Moringa oleifera* leaves extract into semen diluent on cryosurvival and in vitro fertilization competence of buck sperm. *Anim. Reprod. Sci.* 268, 107562 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2024.107562>
66. Ramírez-Bautista, M.A., Ramón-Ugalde, J.P., Aguilar-Urquiza, E., Cetzal-Ix, W., Sanginés-García, R., Domínguez-Rebolledo, Á.E., Piñero-Vázquez, Á.T.: Calidad seminal de ovinos de pelo suplementados con *Moringa oleifera* (Moringaceae) y *Trichanthera gigantea* (Acanthaceae). *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 11, 393–407 (2020). <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i2.5010>
67. Guedea-Betancourt, J.J., Quezada-Casasola, A., Núñez-Gastélum, J.A., Orozco-Lucero, E., Escárcega-Ávila, A.M., Soler Valls, A.J., Carrera-Chávez, J.M.: Effect of *Moringa oleifera* seed extract on antimicrobial activity and in vitro fertilization ability of cryopreserved ram semen. *Reproduction in Domestic Animals.* 57, 1564–1571 (2022). <https://doi.org/10.1111/rda.14233>
68. Perumal, P., Sunder, J., De, A.K., Nahak, A.K., Chaurasia, D.K., Balamurugan, T.C., Bhattacharya, D.: Effect of *Moringa oleifera* on semen quality profiles in endangered Teressa goat under tropical humid island ecosystem. *Asian Pac. J. Reprod.* 13, 89–96 (2024). https://doi.org/10.4103/apjr.apjr_159_23
69. Alam, K., Saurabh, Verma, R.K., Alam, A.: Effect of moringa leaf extract- Added diluent on post-thaw semen quality in Barbari bucks. *Indian Journal of Small Ruminants (The).* 31, 93–96 (2025). <https://doi.org/10.5958/0973-9718.2025.00003.0>
70. El-Seadawy, I.E., Kotp, M.S., El-Maaty, A.M.A., Fadl, A.M., El-Sherbiny, H.R., Abdelnaby, E.A.: The impact of varying doses of moringa leaf methanolic extract supplementation in the cryopreservation media on sperm quality, oxidants, and antioxidant capacity of frozen-thawed ram sperm. *Trop. Anim. Health Prod.* 54, 344 (2022). <https://doi.org/10.1007/s11250-022-03344-y>
71. Akanmu, A.M., Hassen, A.: The use of certain medicinal plant extracts reduced in vitro methane production while improving in vitro organic matter digestibility. *Anim. Prod. Sci.* 58, 900–908 (2018). <https://doi.org/10.1071/AN16291>

72. Elghandour, M.M.Y., Vallejo, L.H., Salem, A.Z.M., Mellado, M., Camacho, L.M., Cipriano, M., Olafadehan, O.A., Olivares, J., Rojas, S.: Moringa oleifera leaf meal as an environmental friendly protein source for ruminants: Biomethane and carbon dioxide production, and fermentation characteristics. *J. Clean. Prod.* 165, 1229–1238 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.07.151>
73. Rafique, A., Mahmood, M.S., Abbas, R.Z., Ali, S., Mian, A., Rizwan, A.: Anthelmintic activity of Moringa oleifera and Azadirachta indica against gastrointestinal nematodes of wild sheep. *J. Hell. Vet. Med. Soc.* 73, 3989–3996 (2022). <https://doi.org/10.12681/jhvms.25876>
74. Medeiros, M.L.S., Alves, R.R.V., Oliveira, B.F., Napoleão, T.H., Paiva, P.M.G., Coelho, L.C.B.B., Bezerra, A.C.D.S., Silva, M.D.C.: In vitro effects of Moringa oleifera seed lectins on Haemonchus contortus in larval and adult stages. *Exp. Parasitol.* 218, 108004 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.108004>
75. Senapati, M., Dehuri, M., Mohanty, B., Sahoo, G.: Phytochemical Screening and anthelmintic efficacy of Punica granatum peels and Moringa oleifera leaves against Haemonchus contortus. *J. Parasitic Dis.* 49, 1045–1054 (2025). <https://doi.org/10.1007/s12639-025-01822-2>

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

CAPÍTULO 3 – ARTIGO 2

Extrato aquoso de folhas de *Moringa oleifera* como aditivo dietético para ovinos Pantaneiros: consumo, digestibilidade e fermentação ruminal ²

Gustavo Daniel Vega Britez¹; Rodrigo Andreo Santos¹; Aylpy Renan Dutra Santos²; Tatiane Fernades³; Bianca Bruna Nascimento Ribeiro¹; Ana Beatriz dos Santos¹; Nicolly da Silva Araujo¹; Fernando Miranda de Vargas Junior¹

¹Universidade Federal da Grande Dourados. Faculdade de Ciências Agrárias. Dourados, MS, Brasil

²Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana, MS, Brasil;

³Virginia Tech - Virginia Polytechnic Institute and State University, United States

RESUMO

O extrato aquoso de folhas de *Moringa oleifera* (EAMO) apresenta elevada concentração de compostos fenólicos, flavonoides e taninos com potencial para modular a fermentação ruminal em ruminantes; contudo, estudos in vivo em ovinos utilizando o extrato na forma de pó são escassos. Este estudo avaliou os efeitos de diferentes concentrações de EAMO como aditivo dietético sobre o consumo, a digestibilidade aparente da dieta e os parâmetros de fermentação ruminal em ovinos Pantaneiros. Doze borregos machos castrados ($41,25 \pm 6,69$ kg; 8 meses de idade) foram distribuídos em delineamento quadrado latino 6×6 duplicado, com seis tratamentos, seis períodos de 19 dias (14 de adaptação e cinco de coleta) e 12 observações por tratamento. Os tratamentos consistiram em: controle negativo (dieta basal sem aditivos); EAMO em pó nas concentrações de 25, 50, 75 e 100 mg/kg de concentrado; e controle positivo com monensina sódica a 30 mg/kg de concentrado. Os dados foram analisados por modelo linear misto com contrastes planejados e ajuste de Sidak. Nenhum dos parâmetros avaliados diferiu significativamente entre os tratamentos nas três áreas mensuradas: consumo e digestibilidade, fermentação ruminal e parâmetros metabólicos. O consumo diário de matéria seca (1,21–1,30

² Este capítulo corresponde ao artigo científico submetido à revista *Animal Feed Science and Technology* [Elsevier, ISSN: 0377-8401] encontra-se em avaliação para publicação.

kg/d) e os coeficientes de digestibilidade aparente de MS, Matéria orgânica, FDN e FDA não diferiram entre os tratamentos. O pH ruminal (6,40–6,59) e a concentração de nitrogênio amoniacal (17,2–20,3 mg/dL) permaneceram dentro dos intervalos fisiológicos adequados, sem diferença entre grupos. As proporções molares de acetato, propionato e butirato e as relações derivadas não foram afetadas pelos tratamentos. As concentrações séricas de glicose, colesterol total, ureia, AST e ALT permaneceram dentro dos valores de referência para a espécie em todos os grupos. A creatinina urinária foi menor no tratamento com monensina em relação ao conjunto dos tratamentos com EAMO ($P=0,05$). Conclui-se que o EAMO, nas doses avaliadas, não compromete o consumo voluntário e apresenta perfil metabólico seguro até 100 mg/kg de concentrado, mas não exerceu efeito modulador mensurável sobre a fermentação ruminal de ovinos em condições de manutenção.

Palavras-chave: Moringa oleifera; compostos fenólicos; digestibilidade; fermentação ruminal; ionóforo; ovinos.

1. Introdução

A busca por estratégias nutricionais capazes de otimizar a eficiência alimentar e o desempenho produtivo de ruminantes tem se intensificado nas últimas décadas, impulsionada pela necessidade de sistemas de produção mais sustentáveis e com menor dependência de aditivos sintéticos. A modulação do ecossistema microbiano ruminal é reconhecida como mecanismo central para aumentar o aproveitamento de nutrientes e reduzir perdas metabólicas, particularmente a emissão de metano entérico, que representa simultaneamente um impacto ambiental relevante e uma perda energética bruta para o animal (Soltan et al., 2018). Nesse contexto, extratos vegetais ricos em metabólitos secundários têm emergido como moduladores naturais da fermentação ruminal, com capacidade de atuar de forma multifuncional sobre a microbiota e o metabolismo do rúmen.

Evidências crescentes indicam que esses extratos influenciam seletivamente populações microbianas ruminais, modulando o perfil de fermentação e a eficiência de utilização de nutrientes em pequenos ruminantes (Kholif e Olafadehan, 2021). Os compostos responsáveis por esses efeitos incluem polifenóis, terpenos, taninos e

saponinas, que apresentam atividades antimicrobianas e antioxidantes específicas sobre determinadas populações microbianas (Faniyi et al., 2019). Faniyi et al. (2021) demonstraram, em ovinos da raça West African Dwarf, que extratos de ervas e especiarias reduzem a produção de metano entérico e melhoram as características de fermentação ruminal. Esses achados estão alinhados com revisões que compilam evidências sobre o potencial de extratos vegetais como moduladores da metanogênese ruminal (Dhanasekaran et al., 2020; Ahmed et al., 2024).

Esses avanços situam os extratos vegetais como alternativas funcionalmente relevantes à monensina sódica, ionóforo amplamente utilizado como modulador ruminal, com efeitos documentados sobre a seleção de bactérias produtoras de propionato e a redução da metanogênese entérica (Appuhamy et al., 2013; Cooke et al., 2024). As consequências do uso prolongado da monensina são de crescente interesse científico, incluindo seu potencial papel na disseminação de resistência antimicrobiana (Carresi et al., 2024). A esse fator somam-se as preferências do mercado consumidor por produtos de origem animal obtidos com menor dependência de aditivos sintéticos (Ciobanu et al., 2024; Zhou et al., 2024), o que reforça a necessidade de identificar compostos de origem natural com perfil funcional equivalente ao da monensina, mas com maior aceitabilidade nas cadeias produtivas atuais.

Paralelamente ao avanço no uso geral de extratos vegetais, *Moringa oleifera* (MO) tem sido investigada tanto como suplemento dietético quanto como aditivo funcional para pequenos ruminantes. Essas duas finalidades são distintas e não devem ser confundidas: na condição de suplemento, o objetivo é suprir nutrientes adicionais, como proteína, vitaminas e minerais (Jelali e Ben Salem, 2014; Cohen-Zinder et al., 2017); na condição de aditivo dietético, a finalidade é modular processos fisiológicos específicos, com ênfase na microbiota ruminal e na eficiência de utilização dos nutrientes. A ação moduladora está associada à elevada concentração de flavonoides, compostos fenólicos e polifenóis presentes nas folhas (Leone et al., 2015; Ghada et al., 2025), compostos com reconhecida capacidade de interferir seletivamente na microbiota ruminal. Soltan et al. (2018) avaliaram diferentes formas de apresentação de MO em cordeiros em crescimento e reportaram efeitos sobre a

fermentação ruminal e a digestibilidade, indicando que o potencial da planta transcende sua função como suplemento nutricional.

Estudos *in vitro* fornecem evidências consistentes desse potencial. Akanmu e Hassen (2017) demonstraram que extratos de MO reduziram a produção de gases e melhoraram a digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica, com alterações no perfil de AGV produzidos durante a incubação. Akanmu, Hassen e Adejoro (2020) ampliaram esse conjunto de evidências ao observar efeitos antimicrobianos seletivos e mudanças desejáveis no padrão fermentativo. Mais recentemente, Akanmu et al. (2025) demonstraram que misturas de extratos vegetais bioativos exercem efeitos sinérgicos sobre a redução de metano e a fermentação ruminal *in vitro*, sugerindo que a combinação de compostos fenólicos de diferentes fontes potencializa os efeitos moduladores individuais. Zeru et al. (2022) identificaram, por meio de análise metabolômica, compostos fenólicos em diferentes acessos de MO com potencial inibitório sobre a metanogênese ruminal, conferindo suporte adicional à hipótese de modulação seletiva do ecossistema microbiano. Esses achados, obtidos em condições controladas de incubação, fundamentam a investigação do potencial modulador de *Moringa oleifera* em estudos *in vivo*, nos quais a validade externa dos efeitos pode ser avaliada diretamente.

Estudos *in vivo* reforçam esse potencial, embora a maioria das evidências disponíveis provenha de pesquisas com caprinos. Kholif et al. (2018a; 2018b) demonstraram que o extrato aquoso líquido de MO melhora a digestibilidade de nutrientes, estimula a síntese de proteína microbiana e favorece o metabolismo energético em cabras Núbias. Moyo et al. (2012) observaram efeitos favoráveis na atividade enzimática hepática e no status antioxidante de caprinos suplementados com folhas de MO. Em ovinos, as formas de apresentação avaliadas até o momento diferem do extrato aquoso em pó; Webb et al. (2022) empregaram extrato metanólico e verificaram efeitos na composição de ácidos graxos e na qualidade da carcaça de cordeiros. Apesar dessas evidências, estudos *in vivo* em ovinos utilizando especificamente o extrato aquoso de MO na forma de pó como aditivo dietético permanecem escassos, o que configura uma lacuna relevante considerando as vantagens dessa forma de apresentação em termos de estabilidade e padronização de dose em relação ao extrato líquido (Kholif et al., 2018a, 2018b). A

extração aquosa tem sido empregada com eficácia para a recuperação de compostos bioativos de fontes vegetais diversas (Vuong et al., 2013), e a conversão do extrato em pó por evaporação controlada permite maior reprodutibilidade na concentração dos compostos ativos entre lotes de preparo.

Diante do exposto, formulou-se a hipótese de que os compostos fenólicos e flavonoides presentes no extrato aquoso de folhas de *Moringa oleifera* (EAMO) modulam seletivamente o ambiente ruminal em ovinos, reduzindo a concentração de nitrogênio amoniacal e alterando o perfil de AGV, sem comprometer o consumo voluntário ou a digestibilidade aparente dos nutrientes. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de diferentes concentrações de EAMO como aditivo dietético sobre o consumo, a digestibilidade aparente da dieta e os parâmetros de fermentação ruminal em ovinos Pantaneiros. Adicionalmente, este estudo representa uma das primeiras avaliações in vivo do EAMO na forma de pó como aditivo dietético para ovinos Pantaneiros.

2. Materiais e métodos

2.1 Preparação do extrato aquoso de *Moringa oleifera*

A preparação do EAMO seguiu a metodologia proposta por Kholif et al. (2018a), com adaptações para obtenção do extrato na forma de pó. Folhas de MO foram coletadas aleatoriamente de diversas árvores jovens e maduras da fazenda experimental da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), localizada no estado de Mato Grosso do Sul, durante o período de verão. As amostras foram identificadas taxonomicamente e depositadas no Herbário da UFGD sob o número DDMS8141 (<https://ddms.jbrj.gov.br/v2/ficha.php?chtestemunho=8141>). As folhas foram imediatamente secas em estufa de ventilação forçada de ar a 60 °C por 72 horas e, em seguida, moídas. A extração foi realizada na proporção de 1 kg de matéria seca de pó de folhas para 8 L de água destilada. Os materiais foram embebidos em frascos fechados e incubados a 30 °C por 72 horas. Após a incubação, o material foi filtrado por quatro camadas de gaze, descartando-se a fração sólida e restando-se a fração líquida, que foi evaporada em estufa de ventilação forçada de ar a 40 °C até peso constante, resultando no extrato em pó. O EAMO foi preparado em lote único (24,02 g de EAMO para cada 100 g de matéria

seca de folhas de MO); as sobras foram acondicionadas a -18 °C em recipiente protegido com papel alumínio até o momento de uso.

2.2 Composição fitoquímica do EAMO

Os extratos obtidos foram submetidos à prospecção fitoquímica segundo a metodologia de Matos (2009). Para confirmação das classes de metabólitos secundários, utilizou-se o procedimento de Wagner e Bladt (2009). A confirmação da presença de triterpenos e esteroides foi realizada por hidrólise do extrato metanólico seco com hidróxido de potássio (0,5 mol/L) em refluxo por 1 hora, seguida de extração com éter etílico e reação de Liebermann-Burchard.

As análises qualitativas abrangeram: compostos fenólicos (precipitação com cloreto férrico); naftoquinona (reação ácido-base); flavonoides (reação de cianidina e ácido sulfúrico); taninos (sais de ferro e precipitação de proteínas); cumarinas (KOH sob luz ultravioleta); triterpenos e esteroides (reação de Liebermann-Burchard); heterosídeos cianogênicos (teste de Guignard); heterosídeos cardioativos (testes de Baljet e de Kedde); alcaloides (reagente de Dragendorff); saponinas (reação de Liebermann-Burchard e teste de ação superficial); e açúcares redutores (reação de Benedict). Todas as análises foram executadas em triplicata. As intensidades das reações foram classificadas como: reação negativa (-); intensidade parcial (+; 10%); baixa (++; 50%); média (+++; 75%); e alta intensidade (++++; 100%).

Tabela 1. Compostos bioativos de EAMO (média $\pm$ desvio padrão para TCF, TF, TT e DPPH)

Compostos bioativos	Extrato aquoso de <i>Moringa oleifera</i>
Compostos fenólicos*	++
Flavonoides*	++
Taninos*	++
Naftoquinona*	-
Cumarinas*	+
Triterpenos e esteroides*	-
Heterosídeos cianogênicos*	+
Heterosídeos cardioativos*	+
Açúcares redutores*	+
Saponinas*	+
Alcaloides*	-

TCF (mg AGE g ⁻¹)	234,55±0,07
TF (mg RE g ⁻¹)	56,37±0,15
TT (mg ATE g ⁻¹)	24,40±0,10
DPPH (IC ₅₀ - µg mL ⁻¹)	74,27±0,06

*Classificações das intensidades das reações: 0 (zero) para reação negativa (-), intensidade parcial (+ = 10%), baixa (++ = 50%), média (+++ = 75%) e alta intensidade (++++ = 100%). TCF: teor de compostos fenólicos (mg/g), TF: teor de flavonoides (mg/g), TT: teor de taninos (mg/g), DPPH: (1,1-difenil-2-picrilhidrazil).

2.3 Quantificação dos compostos fenólicos, flavonoides e taninos

As análises quantitativas foram realizadas com os extratos solubilizados em metanol na concentração de 1 mg mL⁻¹. O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Djeridane et al., 2006): a cada 100 µL de amostra foram adicionados 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (1:10, v/v), 1,5 mL de solução aquosa de carbonato de sódio a 20% e 1 mL de água destilada; após 30 minutos de reação, a absorbância foi lida a 760 nm. A curva analítica foi construída com ácido gálico como padrão (100-1000 µg mL⁻¹); os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg AGE g⁻¹).

O teor de flavonoides foi determinado conforme Djeridane et al. (2006): a cada 1000 µL de amostra foram adicionados 1000 µL de solução de cloreto de alumínio (AlCl₃·6H₂O) a 2% em metanol; após 15 minutos de reação, a absorbância foi lida a 430 nm. A curva analítica utilizou rutina como padrão (10-50 µg mL⁻¹); os resultados foram expressos em mg de equivalentes de rutina por grama de extrato (mg RE g⁻¹).

O teor de taninos foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Denis, com ácido tânico como referência (Pansera et al., 2003): a cada 1 mL de amostra foram adicionados 1 mL de reagente Folin-Denis e 1 mL de solução de carbonato de sódio a 8%; após 2 horas de reação, a absorbância foi lida a 725 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido tânico por grama de extrato (mg ATE g⁻¹).

2.4 Potencial antioxidante

O potencial antioxidante do EAMO foi determinado pelo método de captura do radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), conforme Kumaran e Karunakaran

(2006). Foram preparadas diluições seriadas das amostras em água destilada (50 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a partir de solução-mãe de 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$). A cada 100 μL de cada diluição foram adicionados 3 mL de solução metanólica de DPPH a 0,004%; as misturas foram mantidas ao abrigo da luz, a 25 °C, por 30 minutos. A absorbância foi lida a 517 nm em espectrofotômetro. A concentração inibitória de 50% dos radicais (IC_{50}) foi calculada por regressão linear entre as concentrações testadas e as respectivas percentagens de inibição.

2.5 Animais, dieta e manejo

O experimento foi conduzido no setor de Ovinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias da UFGD, sob protocolo aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais n° 32/2020. Doze borregos Pantaneiros machos castrados (peso corporal inicial: $41,25 \pm 6,69$ kg; 8 meses de idade) foram distribuídos em seis tratamentos experimentais em delineamento quadrado latino 6×6 duplicado, com seis períodos e dois animais por célula experimental, de modo que cada animal recebeu cada tratamento exatamente uma vez ao longo dos seis períodos, totalizando 12 observações por tratamento.

Os animais foram mantidos em baias individuais (2 m² por animal), providas de comedouros, bebedouros e cama de casca de arroz, com acesso à água ad libitum. A alimentação foi fornecida às 08h00 e às 14h00.

A dieta basal consistiu em 60% de concentrado (750 g/kg de milho triturado, 220 g/kg de farelo de soja, 15 g/kg de carbonato de cálcio e 15 g/kg de sal mineral) e 40% de volumoso (feno triturado de capim Tifton-85), formulada para atender às exigências de manutenção de ovinos (NRC, 2007). A composição química da dieta é apresentada na Tabela 2. Os seis tratamentos foram:

- [1] C⁻: dieta basal, sem adição de EAMO ou monensina (controle negativo);
- [2] EAMO-25: dieta basal + 25 mg de EAMO por kg de concentrado;
- [3] EAMO-50: dieta basal + 50 mg de EAMO por kg de concentrado;
- [4] EAMO-75: dieta basal + 75 mg de EAMO por kg de concentrado;
- [5] EAMO-100: dieta basal + 100 mg de EAMO por kg de concentrado;
- [6] C⁺: dieta basal + 30 mg de monensina sódica por kg de concentrado (Rumensin® 200, Elanco Eli Lilly and Company, São Paulo, Brasil), como controle positivo.

O EAMO foi incorporado ao concentrado previamente ao fornecimento. A monensina foi adicionada ao concentrado mediante inclusão de 15 g do produto comercial (200 g/kg de princípio ativo) por 100 kg de concentrado resultando em 30 mg/kg de concentrado. Ao final de cada período experimental, os animais foram pesados individualmente para ajuste das quantidades de ração oferecidas no período subsequente.

Tabela 2. Proporção dos ingredientes e composição química da dieta

Ingredientes (g/kg)	Níveis de EAMO					Monensina
	0 ³	25	50	75	100	
Feno de Tifton85	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Milho triturado	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450
Farelo de soja	0,132	0,132	0,132	0,132	0,132	0,132
Sal mineral ¹	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009
Carbonato de cálcio ²	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009
EAMO (mg/kg)	0	25	50	75	100	0
Monensina (mg/kg)	0	0	0	0	0	30
Composição química (g/kg MS)						
Matéria seca	867±16,3	863±43,3	854±42,9	872±15,3	859±96,1	866±20,6
Matéria orgânica	919±8,09	916±8,63	911±9,95	919±14,00	923±16,19	914±17,92
Proteína bruta	175±17,2	164±6,30	171±15,37	169±8,58	162±16,46	171±6,94
FDN	499±30,37	512±77,64	496±44,86	512±19,22	511±63,58	497±11,30
FDA	306±62,69	297±64,85	322±56,54	313±76,36	312±64,40	304±69,94
Extrato etéreo	18,32±7,84	17,14±0,78	18,4±6,89	17,68±7,91	17,93±6,83	17,93±6,62
Taninos (mg ATE g ⁻¹)	0,03±0,10	0,07±0,00	0,15±0,01	0,21±0,01	0,28±0,01	0,04±0,10
Flavonoides (mg RE g ⁻¹)	0,43±0,06	0,16±0,01	0,31±0,01	0,92±0,01	0,61±0,01	0,50±0,00
Compostos fenólicos (mg AGE g ⁻¹)	2,97±0,06	7,00±0,10	14,40±0,10	20,90±0,10	26,77±0,06	3,07±0,06
Potencial Antioxidante (IC50-µg mL ⁻¹)	2,53±0,06	12,90±0,10	25,37±0,06	37,97±0,12	50,43±0,06	3,13±0,06

¹cloreto de sódio – NaCl BS (Mín) 99,95%; sódio (Na) (Mín) 39,19%; cloreto (Cl) (Mín) 60,45%; Iodo (I) (Máx) 10 ppm; Umidade aparente (Máx) 3,80%.

²cálcio (Ca) (Mín/Máx) 360/400 g/kg; Magnésio (Mg) (Máx) 30,00 g/kg; Mistura mineral (Mín) 960,00 g/kg.

FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; ³controle negativo (dieta basal, 60% concentrado, 40% volumoso).

2.6 Avaliação do consumo e digestibilidade

Cada período experimental teve duração de 19 dias; 14 dias de adaptação e cinco dias de coleta. Nos primeiros três dias do período de coleta, foram realizadas amostragens de ração oferecida e sobras, além de coleta de fezes por meio de coletores individuais fixados a cada animal, esvaziados às 08h00 e às 15h00. O quarto dia foi reservado ao descanso dos animais. No quinto dia foram realizadas as coletas de urina, sangue e fluido ruminal, além da pesagem individual dos animais.

O consumo de matéria seca (CMS) foi registrado diariamente durante todo o período experimental pela diferença entre a quantidade de dieta oferecida e as sobras do dia anterior. As fezes foram pesadas diariamente; amostras compostas de aproximadamente 150 g (base úmida), formadas pela combinação das coletas matutinas e vespertinas de cada animal por período, foram armazenadas a -18 °C. As amostras de ração, sobras e fezes foram secas em estufa de ventilação forçada a 65 °C por 72 horas e moídas em moinho tipo Wiley com peneira de 1 mm.

As amostras foram analisadas para matéria seca (método 930.15), cinzas (método 942.05), nitrogênio total (método 954.01) e extrato etéreo (método 920.39), conforme a AOAC (1997). A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas pelo procedimento de Van Soest et al. (1991). A digestibilidade aparente da MS, Matéria orgânica, PB, FDN e FDA foi calculada pela equação: $\text{Dig. (\%)} = [(g \text{ nutriente ingerido} - g \text{ nutriente excretado nas fezes}) / (g \text{ nutriente ingerido})] \times 100$.

2.7 Coleta e análise de urina

A coleta de urina foi realizada imediatamente antes da coleta sanguínea, com coletores individuais descartáveis acoplados ao corpo do animal. As amostras foram divididas em duas alíquotas: uma diluída em solução de ácido sulfúrico a 50% (proporção 1:5, v/v) e armazenada a -18 °C para determinação de creatinina; outra, sem acidificação, armazenada a -18 °C para determinação de ureia. A creatinina e ureia urinária foram quantificadas pelo método colorimétrico (Gold Analyze Test; 37 °C; 90 s) conforme descrito por Barbosa et al. (2023).

2.8 Coleta e análise do soro sanguíneo

Amostras de sangue (10 mL) foram coletadas no 19º dia de cada período experimental, quatro horas após a alimentação matinal, por punção da veia jugular em tubos Vacutainer contendo coagulante. Após coagulação, as amostras foram centrifugadas a $4000 \times g$ por 20 minutos; o soro foi transferido para tubos Eppendorf de 2 mL e armazenado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a análise.

As concentrações séricas de glicose (510 nm), colesterol total (500 nm) e ureia (600 nm) foram determinadas por espectrofotometria. As atividades de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) foram determinadas por métodos cinéticos. Todas as análises foram realizadas com kits comerciais (Doles®, Goiás, Brasil) em espectrofotômetro SBA 200® (CELM, São Caetano do Sul, Brasil).

2.9 Coleta e análise do fluido ruminal

O fluido ruminal foi coletado no quinto dia do período amostral (19º dia de cada período experimental), quatro horas após a alimentação matinal, por sonda esofágica conectada a bomba de vácuo elétrica. Imediatamente após cada coleta, o pH foi mensurado com potenciômetro digital (MPA-210, MS TecnoPON Instrumentação, Brasil), calibrado com tampões de pH 4,0 e 7,0 (AOAC, 1997). Três subamostras do fluido (5 mL cada), previamente filtradas com quatro camadas de gaze, foram armazenadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).

A concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) ruminal foi realizada de acordo com o método de Broderick e Kang (1980). Os AGCC individuais foram quantificados por cromatografia gasosa com coluna capilar (30 m $\times$ 0,25 mm de diâmetro interno; espessura de filme de 1 μm) e detecção por ionização de chama, conforme Polizel et al. (2020). A temperatura da coluna foi programada para: $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 min, elevação de $20\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até $140\text{ }^{\circ}\text{C}$, seguida de $8\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, mantida por 5 min. A temperatura do injetor foi de $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, a do detector de $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ e o gás de arraste utilizado foi hélio.

2.10 Análise estatística

Os dados foram analisados em delineamento quadrado latino 6 × 6 duplicado, com seis tratamentos e seis períodos. A unidade experimental foi o animal individual. As análises foram conduzidas com o pacote lme4 do software R (v. 4.2.1; RStudio v. 2023.06.1; Kuznetsova et al., 2017), pelo seguinte modelo linear misto:

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{Tratamento}_i + \text{Período}_j + (\text{Bloco} \mid \text{Borrego})_{kl} + \varepsilon_{ijkl}$$

em que Y_{ijkl} é a variável dependente; μ é a média geral; Tratamento_i é o efeito fixo de tratamento ($i = 1, \dots, 6$); Período_j é o efeito fixo de período ($j = 1, \dots, 6$); $(\text{Bloco} \mid \text{Borrego})_{kl}$ é o efeito aleatório de borrego dentro de bloco; e ε_{ijkl} é o erro residual. Observações com resíduos studentizados de valor absoluto superior a 3 foram removidas previamente às análises. Os resultados são apresentados como médias de mínimos quadrados (LSM) acompanhadas do erro padrão da média (EPM).

Os contrastes (C) planejados foram avaliados com a função contrast do pacote emmeans do R, com ajuste de Sidak para controle da taxa de erro familiar, na seguinte estrutura:

C1: C⁻ vs. todos os demais tratamentos;

C2: todos os níveis de EAMO vs. monensina;

C3: EAMO-25 vs. monensina;

C4: EAMO-75 + EAMO-100 vs. monensina;

C5: EAMO-25 vs. EAMO-75.

3. Resultados

3.1 Consumo de nutrientes

Os consumos diários de MS, MO, PB, FDN e FDA não foram significativamente afetados pelos tratamentos em nenhum dos contrastes planejados ($P > 0,05$; Tabela 3). Os valores de consumo de MS variaram de 1,21 kg/d no tratamento com monensina a 1,30 kg/d no EAMO-75 (EPM=0,162), sem diferença significativa entre o controle negativo e os demais tratamentos (C1: $P=0,90$), entre o conjunto dos tratamentos com EAMO e a monensina (C2: $P=0,94$), nem entre doses específicas de EAMO e a monensina (C3: $P=0,74$; C4: $P=0,89$; C5: $P=0,99$).

Para o consumo de EE, o tratamento com monensina apresentou menor ingestão (12,3 g/d) em relação ao conjunto dos tratamentos com EAMO (média=21,7 g/d), com tendência detectada no contraste C2 ($P=0,09$) e no contraste C4 EAMO-75+EAMO-100 vs. monensina ($P=0,06$). O contraste C5 indicou maior consumo de EE em EAMO-75 (23,0 g/d) em relação a EAMO-25 (13,8 g/d; $P=0,05$; Tabela 3).

3.2 Digestibilidade aparente dos nutrientes

Os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, FDN, FDA e EE não diferiram significativamente entre os tratamentos em nenhum contraste planejado ($P>0,05$; Tabela 3). Os valores de digestibilidade da MS variaram de 78,8% (EAMO-75) a 80,5% (EAMO-25; $EPM=1,95$), sem efeito significativo do tratamento nos contrastes C1 a C5 ($P>0,99$ em todos).

Para a digestibilidade aparente da PB, o contraste C5 indicou maior coeficiente para EAMO-75 (47,9%) em comparação a EAMO-25 (33,8%; $P=0,04$; $EPM=2,71$). Os demais contrastes para essa variável não atingiram significância (C1: $P=0,98$; C2: $P=0,65$; C3: $P=0,65$; C4: $P=0,16$; Tabela 3).

3.3 Parâmetros sanguíneos e urinários

As concentrações séricas de glicose, colesterol total, ureia, AST e ALT não foram significativamente afetadas pelos tratamentos em nenhum dos contrastes planejados ($P>0,05$; Tabela 4). Os valores de AST variaram de 46,3 U/L (EAMO-25) a 59,2 U/L (monensina; $EPM=6,67$), e os de ALT de 8,95 U/L (EAMO-25) a 11,73 U/L (monensina; $EPM=1,37$).

Para os parâmetros urinários, a excreção de ureia não diferiu significativamente entre os tratamentos em nenhum contraste ($P>0,14$; Tabela 4). A creatinina urinária foi significativamente menor no tratamento com monensina (0,48 mg/dL) em relação ao conjunto dos tratamentos com EAMO (0,68–0,84 mg/dL; C2: $P=0,05$; $EPM=0,111$). O contraste C4 indicou tendência similar ($P=0,08$). O controle negativo apresentou valor de creatinina urinária idêntico ao da monensina (CON: 0,48 mg/dL), e o contraste C1 não atingiu significância ($P=0,13$; Tabela 4).

3.4 Parâmetros de fermentação ruminal

O pH ruminal não diferiu entre os tratamentos em nenhum contraste planejado ($P>0,05$; Tabela 5), com valores variando de 6,40 (EAMO-50) a 6,59 (EAMO-25; $EPM=0,116$). A concentração de $N-NH_3$ ruminal também não foi significativamente afetada pelos tratamentos (C1: $P=0,76$; C2: $P=0,97$; C3–C5: $P>0,05$), com valores entre 17,2 mg/dL (monensina) e 20,3 mg/dL (CON; $EPM=1,69$).

Os AGCC totais não diferiram significativamente em nenhum contraste, exceto C5, no qual EAMO-75 apresentou maior concentração (78,4 mmol/L) do que EAMO-25 (72,8 mmol/L; $P=0,04$; $EPM=3,46$; Tabela 5). As proporções molares de acetato (61,9–62,9%), propionato (18,6–20,6%), butirato (13,4–14,3%), iso-butirato (1,16–1,30%), iso-valerato (1,87–2,13%) e valerato (1,13–1,24%), bem como as relações acetato:propionato, (acetato+butirato):propionato e acetato:(propionato+butirato), não diferiram significativamente entre os tratamentos em nenhum contraste avaliado ($P>0,05$; Tabela 5).

Tabela 3. Consumo e digestibilidade de nutrientes das dietas com diferentes níveis de EAMO

Variáveis dependentes	Tratamentos					P – value para contrastes						
	CON	25 EAMO	50 EAMO	75 EAMO	100 EAMO	MON	EPM	C1	C2	C3	C4	C5
Consumo												
Matéria seca, kg/d	1.28	1.25	1.22	1.30	1.22	1.21	0.162	0.90	0.94	0.74	0.89	0.99
Matéria orgânica, kg/d	1.21	1.17	1.15	1.22	1.15	1.13	0.155	0.86	0.90	0.64	0.79	0.99
Proteína bruta, g/d	161	159	165	165	153	164	18.1	1.00	1.00	1.00	0.99	0.99
Fibra detergente neutro, g/d	316	330	332	307	300	319	25.5	0.99	0.99	0.99	0.98	0.99
Fibra detergente ácido, g/d	298	265	300	299	278	252	28.3	0.96	0.73	0.66	0.73	0.85
Extrato etéreo, g/d	22.2	13.8	25.6	23.0	21.9	12.3	3.14	0.92	0.09	0.16	0.06	0.05
Digestibilidade, %												
Matéria seca	80.2	80.5	79.8	78.8	79.9	79.7	1.95	0.99	1.00	0.99	0.99	0.99
Matéria orgânica	79.0	79.2	78.5	77.4	78.6	78.4	2.07	0.99	1.00	0.99	0.99	0.99
Proteína bruta	42.8	33.8	43.7	47.9	41.8	38.0	2.71	0.98	0.65	0.65	0.16	0.04
Fibra detergente neutro	30.5	32.1	33.0	30.7	29.5	30.5	2.52	0.99	0.99	1.00	0.99	0.99
Fibra detergente ácido	35.3	32.2	34.1	34.6	33.9	33.0	2.88	0.98	0.99	0.98	0.99	0.99
Extrato etéreo	66.1	58.7	60.6	59.8	57.8	55.3	3.26	0.17	0.82	0.11	0.92	0.99

CON: dieta basal (60% concentrado (75% milho triturado, 22% farelo de soja, 1,5% carbonato de cálcio, 1,5% sal mineral); 25 EAMO: dieta basal + 25 mg de EAMO por cada kg de concentrado; 50 EAMO: dieta basal + 50 mg de EAMO por cada kg de concentrado; 75 EAMO: dieta basal + 75 mg de EAMO por cada kg de concentrado; 100 EAMO: dieta basal + 100 mg de EAMO por cada kg de concentrado; MON: dieta basal + 30 mg de monensina por cada kg de concentrado. EPM: erro padrão da média.

C1 = CON vs. outros tratamentos; C2 = todos EAMO vs. MON; C3 = EAMO 25 vs. MON; C4 = EAMO 75 + EAMO 100 vs. MON; C5 = EAMO 25 vs. EAMO 75.

Tabela 4. Parâmetros sanguíneos e urinários de borregos castrados recebendo diferentes concentração dietética de EAMO.

Variáveis dependentes	Tratamentos					P – value para contrastes						
	CON	25 EAMO	50 EAMO	75 EAMO	100 EAMO	MON	EPM	C1	C2	C3	C4	C5
Parâmetros sanguíneos												
Glicose, mg/dL	44.2	38.7	48.1	44.5	42.2	50.5	4.75	0.99	0.62	0.88	0.71	0.58
Colesterol total, mg/dL	43.0	40.2	49.1	40.5	47.1	49.0	5.63	0.99	0.94	0.94	0.94	0.76
Ureia, mg/dL	35.3	33.8	34.7	32.4	35.4	36.6	3.19	0.99	0.96	0.99	0.97	0.99
Transaminase Glutâmico-Oxalacética (AST)	48.3	46.3	56.6	47.5	51.9	59.2	6.67	0.99	0.76	0.77	0.76	0.80
Transaminase Glutâmico-Pirúvica (ALT)	9.03	8.95	10.91	9.44	9.76	11.73	1.37	0.95	0.66	0.57	0.67	0.84
Parâmetros urinários												
Ureia, mmolL	32.5	43.1	47.9	50.0	41.1	36.3	5.71	0.14	0.33	0.98	0.42	0.96
Creatinina, mg/dL	0.48	0.72	0.79	0.84	0.68	0.48	0.111	0.13	0.05	1.00	0.08	0.98

CON: dieta basal (60% concentrado (75% milho triturado, 22% farelo de soja, 1,5% carbonato de cálcio, 1,5% sal mineral); 25 EAMO: dieta basal + 25 mg de EAMO por cada kg de concentrado; 50 EAMO: dieta basal + 50 mg de EAMO por cada kg de concentrado; 75 EAMO: dieta basal + 75 mg de EAMO por cada kg de concentrado; 100 EAMO: dieta basal + 100 mg de EAMO por cada kg de concentrado; MON: dieta basal + 30 mg de monensina por cada kg de concentrado. EPM: erro padrão da média.

C1 = CON vs. outros tratamentos; C2 = todos EAMO vs. MON; C3 = EAMO 25 vs. MON; C4 = EAMO 75 + EAMO 100 vs. MON; C5 = EAMO 25 vs. EAMO 75.

Tabela 5. Fermentação ruminal de borregos castrados recebendo diferentes concentração dietética de EAMO.

Variáveis dependentes	Tratamentos					P – value para contrastes						
	CON	25 EAMO	50 EAMO	75 EAMO	100 EAMO	MON	EPM	C1	C2	C3	C4	C5
pH	6.45	6.59	6.40	6.48	6.48	6.45	0.116	0.99	0.98	1.00	0.99	0.22
N-NH ₃ , mg/dL	20.3	18.4	18.9	18.6	18.0	17.2	1.69	0.76	0.97	0.65	0.99	1.00
Total AGCC, mmol/L	79.9	72.8	83.9	78.4	72.8	78.2	3.46	0.92	0.99	0.99	0.95	0.04
Ácido acético, %	61.9	62.6	62.6	62.5	62.9	61.9	0.75	0.95	0.87	1.00	0.88	1.00
Ácido propiônico, %	19.2	18.6	19.3	20.0	18.7	20.6	0.90	1.00	0.53	0.76	0.73	0.98
Ácido butírico, %	13.5	14.3	13.7	13.4	14.1	14.0	0.63	0.98	0.99	0.98	0.99	0.96
Ácido iso-butirato, %	1.18	1.30	1.18	1.17	1.16	1.17	0.054	0.99	0.98	0.99	0.99	0.37
Ácido iso-valérico, %	2.13	2.04	1.91	1.87	1.98	1.98	0.138	0.76	0.99	0.94	0.99	0.96
Ácido valerato, %	1.16	1.18	1.24	1.13	1.18	1.15	0.039	0.99	0.97	0.99	0.99	0.80
Acético/ Propiônico	3.20	3.46	3.27	3.19	3.44	3.10	0.182	0.99	0.72	0.99	0.85	0.94
(Acético + Butírico) / Propiônico	3.93	4.26	4.08	3.88	4.22	3.60	0.231	0.99	0.18	0.78	0.39	0.99
Acético / (Propiônico + Butírico)	1.89	1.92	1.92	1.89	1.93	1.85	0.063	0.99	0.87	1.00	0.94	1.00

CON: dieta basal (60% concentrado (75% milho triturado, 22% farelo de soja, 1,5% carbonato de cálcio, 1,5% sal mineral); 25 EAMO: dieta basal + 25 mg de EAMO por cada kg de concentrado; 50 EAMO: dieta basal + 50 mg de EAMO por cada kg de concentrado; 75 EAMO: dieta basal + 75 mg de EAMO por cada kg de concentrado; 100 EAMO: dieta basal + 100 mg de EAMO por cada kg de concentrado; MON: dieta basal + 30 mg de monensina por cada kg de concentrado. EPM: erro padrão da média.

C1 = CON vs. outros tratamentos; C2 = todos EAMO vs. MON; C3 = EAMO 25 vs. MON; C4 = EAMO 75 + EAMO 100 vs. MON; C5 = EAMO 25 vs. EAMO 75.

4. DISCUSSÃO

4.1. Consumo de nutrientes

A ausência de efeito dos tratamentos sobre o consumo voluntário de MS e demais nutrientes é um resultado com implicações práticas relevantes, pois indica que a incorporação do EAMO ao concentrado, nos níveis de 25 a 100 mg/kg de concentrado, não compromete a ingestão alimentar em ovinos. Esse resultado é consistente com os reportados por Kholif et al. (2018a, 2018b) para cabras Núbias suplementadas com extrato aquoso líquido de MO, e com os de Soltan et al. (2018) para cordeiros recebendo diferentes formas de MO. A manutenção do consumo sugere que os compostos fenólicos e taninos do extrato, nas concentrações avaliadas, não exercem efeito antipalativo mensurável, o que é relevante considerando que taninos condensados em concentrações elevadas podem reduzir a palatabilidade e o consumo voluntário em ruminantes (Makkar, 2003).

A tendência para menor consumo de EE na monensina em relação ao conjunto dos tratamentos com EAMO (C2: $P=0,09$) e a diferença significativa detectada no contraste C5 (EAMO-25 vs. EAMO-75, $P=0,05$) não foram acompanhadas de diferença correspondente no consumo total de MS entre esses tratamentos. Considerando que os ingredientes da dieta foram os mesmos em todos os tratamentos e que as concentrações de EE nas dietas foram similares entre grupos (Tabela 2), mas com desvios padrão elevados em alguns tratamentos particularmente EAMO-75 ($17,68 \pm 7,91$ g/kg MS), a variação observada no consumo de EE reflete, em parte, a variabilidade na composição da dieta entre períodos experimentais, e não necessariamente um efeito biológico diferencial do EAMO ou da monensina sobre o comportamento ingestivo.

4.2 Digestibilidade aparente dos nutrientes

A ausência de efeito geral do EAMO sobre a digestibilidade da MS, MO, FDN e FDA contrasta com alguns relatos disponíveis para formas líquidas do extrato. Kholif et al. (2018a) demonstraram melhorias na digestibilidade de MS, MO e FDN em cabras Núbias suplementadas com extrato aquoso líquido de MO em doses superiores às do presente estudo. Essa discrepância pode ser atribuída a pelo menos três fatores: a forma de apresentação do extrato, dado que a evaporação a 40 °C pode resultar em perdas parciais de compostos bioativos termolábeis, reduzindo a concentração efetiva de polifenóis em relação ao extrato líquido; a dose efetiva no rúmen, que depende da concentração de compostos ativos no extrato em pó e da taxa de diluição pelo conteúdo ruminal; e diferenças fisiológicas entre caprinos e ovinos em parâmetros como taxa de passagem e capacidade tamponante do rúmen. Du Preez et al. (2023) igualmente não detectaram efeito significativo de extratos de MO sobre a digestibilidade de nutrientes em borregas Merino em condições *in vivo*, reforçando que a transposição dos efeitos observados *in vitro* para condições *in vivo* em ovinos não é direta.

O contraste C5 para digestibilidade de PB (EAMO-75=47,9% vs. EAMO-25=33,8%; $P=0,04$) requer interpretação cautelosa. A ausência de efeito no contraste C1 ($P=0,98$) e a inexistência de padrão dose-resposta consistente ao longo dos cinco níveis avaliados com EAMO-100 (41,8%) inferior a EAMO-75 e superior a EAMO-25 indicam que essa diferença pontual não reflete um efeito biológico robusto e dose-dependente do EAMO sobre o metabolismo proteico ruminal. A elevada variabilidade intersperíodo na composição da PB da dieta (Tabela 2), associada ao pequeno número de animais por tratamento no delineamento ($n=2$ por célula experimental), provavelmente contribuiu para essa oscilação. Cabe destacar que os teores de taninos nas dietas com EAMO (0,07–0,28 mg ATE/g MS), correspondentes a 0,007–0,028% da MS, são substancialmente inferiores às concentrações de taninos condensados (acima de 50 g/kg MS) tipicamente associadas a efeitos deletérios sobre a digestibilidade da proteína e o metabolismo ruminal em pequenos ruminantes (Makkar, 2003), o que torna biologicamente improvável qualquer efeito proteolítico ou antiproteolítico expressivo nos níveis avaliados.

4.3 Parâmetros sanguíneos e urinários

As concentrações séricas de glicose, colesterol total, ureia, AST e ALT permaneceram dentro dos intervalos de referência para ovinos em todos os tratamentos (Kaneko et al., 2008), o que indica ausência de efeito adverso do EAMO sobre o metabolismo energético, lipídico e a integridade hepática. A estabilidade dos valores de AST e ALT em todos os grupos, incluindo o nível máximo de EAMO-100, é particularmente relevante do ponto de vista da segurança, pois essas enzimas são marcadores sensíveis de lesão hepatocelular. Resultados análogos foram reportados por Kholif et al. (2018a, 2018b) em caprinos suplementados com extrato aquoso líquido de MO, reforçando o perfil de segurança metabólica do extrato nos níveis avaliados.

A diferença significativa na creatinina urinária entre os tratamentos com EAMO (0,68–0,84 mg/dL) e a monensina (0,48 mg/dL; C2: $P=0,05$) requer interpretação cuidadosa. O valor de creatinina urinária do controle negativo (CON: 0,48 mg/dL) foi numericamente idêntico ao da monensina, e o contraste C1 não atingiu significância ($P=0,13$), indicando que o efeito detectado em C2 não reflete aumento induzido pelo EAMO, mas sim redução associada à monensina em relação aos tratamentos com EAMO. Luo et al. (2024) não encontraram diferenças significativas nos níveis plasmáticos de creatinina entre ovinos suplementados com monensina e o grupo controle ($P=0,96$), sugerindo que a monensina não altera a concentração circulante do metabólito. No presente estudo, o efeito foi observado especificamente na fração urinária (C2: $P=0,05$), o que, em conjunto com a ausência de efeito no contraste C1 ($P=0,13$), aponta para um possível efeito da monensina no manejo tubular renal da creatinina, padrão coerente com os efeitos dessa molécula sobre o metabolismo nitrogenado urinário em ovinos documentados por Moharrery e Nourian (2012). A variabilidade dos valores de creatinina nos tratamentos com EAMO (contraste C4

apenas tendencial, $P=0,08$; contraste C1 não significativo) não permite concluir sobre efeito dose-dependente do extrato sobre esse parâmetro. A interpretação é limitada ainda pela ausência de medida de depuração de creatinina, que permitiria distinguir alterações na taxa de filtração glomerular de alterações na produção muscular do metabólito (Kaneko et al., 2008).

A excreção urinária de ureia não foi significativamente afetada por nenhum tratamento ($P>0,14$), resultado consistente com a ausência de efeito da monensina sobre o nitrogênio ureico sanguíneo documentada por Luo et al. (2024) em ovinos Hu em terminação. Esses resultados em conjunto indicam que nem a monensina nem o EAMO, nas doses testadas, comprometeram o balanço nitrogenado dos animais.

4.4 Parâmetros de fermentação ruminal

O pH ruminal manteve-se entre 6,40 e 6,59 em todos os tratamentos, valores compatíveis com condições adequadas para atividade celulolítica e crescimento microbiano eficiente no rúmen (Van Soest, 1994). A ausência de efeito sobre o pH era esperada em dietas com proporção volumoso:concentrado de 40:60, fornecidas em regime de manutenção, pois a produção de AGV nessas condições não é suficiente para reduzir o pH abaixo do limiar crítico de 6,2. Por conseguinte, qualquer efeito potencial da monensina sobre a estabilização do pH estaria atenuado nesse cenário metabólico.

A concentração de $N-NH_3$ ruminal variou de 17,2 a 20,3 mg/dL em todos os tratamentos, intervalo situado dentro dos limites considerados adequados para a síntese de proteína microbiana ruminal (5–30 mg/dL; Satter e Slyter, 1974), sem diferença significativa entre os grupos. A não redução do $N-NH_3$ pelos tratamentos com EAMO é coerente com os baixos teores de taninos nas dietas experimentais (Makkar, 2003) e com os resultados de Du Preez et al. (2023), que igualmente não detectaram efeito de extratos de MO sobre a amônia ruminal em ovinos. Se os compostos fenólicos do extrato exercessem efeito protetor de proteína da dieta contra a degradação ruminal, seria esperada redução na concentração de $N-NH_3$; a ausência desse efeito corrobora a hipótese de que as doses utilizadas foram insuficientes para modular a proteólise ruminal *in vivo*.

A ausência de efeito sobre as proporções molares de acetato, propionato e butirato, assim como sobre suas relações, constitui o achado de maior relevância para a hipótese central do estudo. Ionóforos como a monensina tipicamente aumentam a proporção de propionato e reduzem a relação acetato:propionato em ruminantes, efeito amplamente documentado em condições de produção intensiva (Cooke et al., 2024). No presente experimento, a monensina apresentou numericamente a maior proporção de propionato (20,6%) e a menor relação acetato:propionato (3,10), direção coerente com seu mecanismo de ação como ionóforo, mas sem significância estatística. Resultado análogo foi observado por Luo et al. (2024) em ovinos Hu em terminação suplementados com monensina a 40 mg/kg MS, nos quais igualmente

não foram detectadas diferenças significativas no perfil de AGCC em relação ao controle. A ausência de efeito estatístico em ambos os estudos, conduzidos em regimes de manutenção ou crescimento com tamanhos amostrais reduzidos, é consistente com o entendimento de que os efeitos da monensina sobre a fermentação ruminal podem ser numericamente presentes, mas estatisticamente indetectáveis quando a pressão produtiva e o poder do delineamento são limitados (Cooke et al., 2024). Para o EAMO, a ausência de efeito sobre a fermentação ruminal *in vivo* contrasta com as evidências disponíveis em sistemas *in vitro*. Akanmu e Hassen (2017) e Akanmu et al. (2025) demonstraram, respectivamente, modulação da fermentação e efeitos sinérgicos de extratos vegetais bioativos sobre a produção de metano e o perfil de AGCC em incubações *in vitro*. Essa divergência entre resultados *in vitro* e *in vivo* é recorrente na literatura com extratos vegetais e resulta de mecanismos bem estabelecidos: as concentrações de compostos bioativos empregadas em ensaios *in vitro* são tipicamente expressas por unidade de substrato incubado e superam, em ordens de magnitude, as concentrações efetivamente disponíveis no ambiente ruminal após diluição pela ingesta, pela saliva e pelo fluido ruminal; adicionalmente, a comunidade microbiana ruminal *in vivo* apresenta maior redundância funcional e capacidade de adaptação a compostos fenólicos do que populações microbianas em frascos fechados, onde a pressão seletiva é mais intensa. Esses fatores devem ser considerados ao projetar doses *in vivo* com base em experimentos *in vitro* com extratos vegetais.

O contraste C5 para AGCC totais (EAMO-75=78,4 vs. EAMO-25=72,8 mmol/L; P=0,04) não se sustenta como efeito biológico consistente, pois EAMO-100 apresentou valor idêntico ao de EAMO-25 (72,8 mmol/L) e o efeito geral do tratamento não foi significativo (C1: P=0,92). A diferença detectada em C5 provavelmente reflete variabilidade aleatória associada ao delineamento, e não um efeito dose-dependente do EAMO sobre a produção total de AGCC.

5. Conclusão

O extrato aquoso de folhas de *Moringa oleifera* em pó, administrado como aditivo dietético nas concentrações de 25 a 100 mg/kg de concentrado, não comprometeu o consumo voluntário nem a digestibilidade aparente dos nutrientes em ovinos Pantaneiros em condições de manutenção. Os parâmetros de fermentação ruminal, incluindo pH, concentração de N-NH₃ e perfil de AGCC, mantiveram-se dentro dos intervalos fisiológicos de referência para a espécie em todos os tratamentos, assim como os parâmetros metabólicos sanguíneos e urinários avaliados, indicando ausência de efeito adverso do extrato nas doses testadas.

Contudo, a hipótese de modulação seletiva da fermentação ruminal pelo EAMO não foi confirmada: não foram detectados efeitos significativos sobre a relação acetato:propionato, a concentração de N-NH₃ ou o perfil individual de AGCC que indicassem ação moduladora comparável à da monensina. As diferenças isoladas observadas em contrastes específicos para digestibilidade aparente da PB e AGCC

totais não apresentaram padrão dose-resposta consistente e não sustentam inferências sobre mecanismo de ação do extrato.

Os resultados indicam que as doses avaliadas foram insuficientes para exercer efeito modulador mensurável sobre o ambiente ruminal de ovinos *in vivo*, e que a transposição de doses eficazes estabelecidas em sistemas *in vitro* para condições *in vivo* requer recalibração. Estudos futuros devem investigar concentrações mais elevadas de EAMO, superiores ao intervalo de 25 a 100 mg/kg de concentrado avaliado neste estudo, o impacto da forma de apresentação do extrato sobre a biodisponibilidade ruminal dos compostos bioativos, e o efeito modulador em animais sob condições de produção, nas quais a demanda metabólica é maior e a expressão dos efeitos de aditivos ruminais tende a ser mais pronunciada.

6. Referências

- Ahmed, M.G., Elwakeel, E.A., El-Zarkouny, S.Z., Al-Sagheer, A.A. 2024. Environmental impact of phytobiotic additives on greenhouse gas emission reduction, rumen fermentation manipulation, and performance in ruminants: an updated review. *Environmental Science and Pollution Research*, 31, 37943–37962. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-33664-5>
- Akanmu, A.M., Hassen, A., van Marle-Köster, E., Azaizeh, H., Apostolides, Z., Landau, S.Y. 2025. Synergistic effects of bioactive plant extract mixtures on methane reduction and rumen fermentation of *eragrostis curvula* hay *in vitro*. *Scientific Reports*, 15, 34878. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-16544-x>
- Akanmu, A.M., Hassen, A., Adejoro, F.A. 2020. Haematology and Serum Biochemical Indices of Lambs Supplemented with *Moringa oleifera*, *Jatropha curcas* and *Aloe vera* Leaf Extract as Anti-Methanogenic Additives. *Antibiotics*, 9, 601, <https://dx.doi.org/10.3390/antibiotics9090601>
- Akanmu, A.M., Hassen, A. 2017. The use of certain medicinal plant extracts reduced *in vitro* methane production while improving *in vitro* organic matter digestibility. *Animal Production Science*, 58(5), 900-908. <https://doi.org/10.1071/AN16291>
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. 1997. Official Methods of Analysis. 16th, Washington, DC., USA.
- Appuhamy, J.A.D.R.N., Strathe, A.B., Jayasundara, S., Wagner-Riddle, C., Dijkstra, J., France, J., Kebreab, E. 2013. Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef cattle: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 96(8), 5161-5173. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5923>
- Barbosa, C.R., Pantoja, J.C., Fernandes, T., Chagas, R.A., Souza, C.G., Santos, A.R.D., Souza, M.R., Vargas Junior, F.M. 2023. Bioactive Compounds of Barbatimão

(*Stryphnodendron* sp.) as Dietary Additive in Lamb Diets. *Agriculture*, 13(3), 664. <https://doi.org/10.3390/agriculture13030664>

Broderick, G.A., Kang, J.H. 1980. Automated Simultaneous Determination of Ammonia and Total Amino Acids in Ruminal Fluid and In Vitro Media. *Journal of Dairy Science*, 63(1), 64-75. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82888-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8)

Carresi, C., Marabelli, R., Roncada, P., Britti, D. 2024. Is the Use of Monensin Another Trojan Horse for the Spread of Antimicrobial Resistance? *Antibiotics*, 13, 129. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13020129>

Cohen-Zinder, M., Orlov, A., Trofimiyuk, O., Agmon, R., Kabiya, R., Shor-Shimoni, E., Wagner, E.K., Hussey, K.H., Leibovich, H., Miron, J., Shabtay, A. 2017. Dietary supplementation of *Moringa oleifera* silage increases meat tenderness of Assaf lambs. *Small Ruminant Research*, 151, 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.04.021>

Cooke, R.F., Eloy, L.R., Bosco, S.C., Lasmar, P.V.F., de Simas, J.M.C., Leiva, T., de Medeiros, S.R. 2024. An updated meta-analysis of the anti-methanogenic effects of monensin in beef cattle. *Translational Animal Science*, 8, txae032. <https://doi.org/10.1093/tas/txae032>

Ciobanu, M.-M., Flocea, E.-I., Boisteanu, P.-C. 2024. The Impact of Artificial and Natural Additives in Meat Products on Neurocognitive Food Perception: A Narrative Review. *Foods*, 13, 3908. <https://doi.org/10.3390/foods13233908>

Dhanasekaran, D.K., Dias-Silva, T.P., Abdalla Filho, A.L., Sakita, G.Z., Abdalla, A.L., Louvandini, H., Elghandour, M.M.M.Y. 2020. Plants extract and bioactive compounds on rumen methanogenesis. *Agroforestry Systems*, 94, 1541–1553. <https://doi.org/10.1007/s10457-019-00411-6>,

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, 654-660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028>

Du Preez, D.A., Akanmu, A.M., Adejoro, F.A., Hassen, A. 2023. The Effect of Monensin vs. Neem, and Moringa Extracts on Nutrient Digestibility, Growth Performance, Methane, and Blood Profile of Merino Lambs. *Animals*, 13, 3514. <https://doi.org/10.3390/ani13223514>

Faniyi, T.O., Adewumi, M.K., Jack, A.A., Adegbeye, M.J., Elghandour, M.M.M.Y., Barbabosa- Pliego, A., Salem, A.Z.M. 2021. Extracts of herbs and spices as feed additives mitigate ruminal methane production and improve fermentation

characteristics in West African Dwarf sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 53, 312. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02751-x>

Faniyi, T.O., Prates, Ê.R., Adegbeye, M.J., Adewumi, M.K., Elghandour, M.M.M.Y., Salem, A.Z.M., Ritt, L.A., Sánchez-Zubieta, A., Stella, L., Ticiani, E., Jack, A.A. 2019. Prediction of biogas and pressure from rumen fermentation using plant extracts to enhance biodigestibility and mitigate biogases. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 27043–27051. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05585-1>

Ghada, B.K.; Marwa, R.; Shah, T.A.; Dabiellil, M.; Dawoud, T.M.; Bourhia, M.; Tebra, T.; Hadhami, C.; Tarek, S.; Chiraz, C-H. 2025. Phytochemical composition, antioxidant potential, and insecticidal activity of *Moringa oleifera* extracts against *Tribolium castaneum*: a sustainable approach to pest management. *BMC Plant Biology*, 25, 579. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06626-3>

Jelali, R., Ben Salem, H. 2014. Daily and alternate day supplementation of *Moringa oleifera* leaf meal or soyabean meal to lambs receiving oat hay. *Livestock Science*, 168, 84–88. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2014.07.005>

Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. 2008. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. San Diego: Academic Press.

Kholif, A.E., Olafadehan, O.A. 2021. Essential oils and phytogetic feed additives in ruminant diet: chemistry, ruminal microbiota and fermentation, feed utilization and productive performance. *Phytochemistry Reviews*, 20, 1087–1108. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09739-3>

Kholif, A.E., Gouda, G.A., Anele, U.Y., Galyean, M.L. 2018a. Extract of *Moringa oleifera* leaves improves feed utilization of lactating Nubian goats. *Small Ruminant Research*, 158, 69-75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.10.014>

Kholif, A.E., Gouda, G.A., Olafadehan, O.A., Abdo, M.M. 2018b. Effects of replacement of *Moringa oleifera* for berseem clover in the diets of Nubian goats on feed utilisation, and milk yield, composition and fatty acid profile. *Animal*, 12(5), 964-972. <http://dx.doi.org/10.1017/S1751731117002336>

Kumaran, A., Karunakaran, R.J. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97, 109-114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.032>

Kuznetsova, A., Brockhoff, P.B., Christensen, R.H.B. 2017. ImerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software* 2017, 82(13), 1–26. <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>

- Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., Bertoli, S. 2015. Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6), 12791-12835; <https://doi.org/10.3390/ijms160612791>
- Luo, J., Jiang, J., Duan, H., Zhang, H., Sun, M., Mao, S., Shen, J. 2024. Comparative effects of nisin and monensin supplementation on growth performance, rumen fermentation, nutrient digestion, and plasma metabolites of fattening Hu sheep. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1441431. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1441431>
- Makkar, H.P.S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49(3), 241–256. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00142-1](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1)
- Matos, F.J.A. 2009. Introdução a fitoquímica experimental. 3. ed. Fortaleza: *Edições UFC*, 150 p.
- Moharrery, A., Nourian, S.H. 2012. Monensin Effects on Performance, Diet Digestibility, Fecal and Urinary Nitrogen Losses in Sheep. *Iranian Journal of Animal Science*, 43(4), 465-479. <https://doi.org/10.22059/ijas.2013.30267>
- Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P.J., Muchenje, V. 2012. Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with *Moringa oleifera* leaves/sunflower seed cake. *Meat Science*, 91, 441–447. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.029>
- NRC - National Research Council. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelid. The National Academy of Sciences, Washington, DC.
- Pansera, M.R., Santos, A.C.A., Wasum, R., Rossato, M., Rota, L.D., Pauletti, G.F., Serafini, L.D. 2003. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13(1), 17-23. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2003000100002>
- Polizel, D.M., Cappellozza, B.I., Hoe, F., Lopes, C.N., Barroso, J.P., Miszura, A., Oliveira, G.B., Gobato, L., Pires, A.V. 2020. Effects of narasin supplementation on dry matter intake and rumen fermentation characteristics of *Bos indicus* steers fed a high-forage diet. *Translational Animal Science*, 4, 118–128. <https://doi.org/10.1093/tas/txz164>

- Satter, L.D., Slyter, L.L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition*, 32(2), 199–208. <https://doi.org/10.1079/BJN19740073>
- Soltan, Y.A., Hashem, N.H., Morsy, A.S., El-Azrak, K.M., Nour El-Din, A., Sallam, S.M. 2018. Comparative effects of *Moringa oleifera* root bark and monensina supplementations on ruminal fermentation, nutrient digestibility and growth performance of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 235, 189–201. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.021>
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd ed. Cornell University Press.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Vuong, Q.V., Hirun, S., Roach, P.D., Bowyer, M.C., Phillips, P.A., Scarlett, C.J. 2013. Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. *Journal of Herbal Medicine*, 3(3), 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2013.04.004>
- Wagner, H., Bladt, S. 2009. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. 2. ed. London: Springer, 384 p.
- Webb, E.C., Hassen, A., Olaniyi, M.O., Pophiwa, P. 2022. Effect of Dietary Inclusion of *Azadirachta indica* and *Moringa oleifera* Leaf Extracts on the Carcass Quality and Fatty Acid Composition of Lambs Fed High Forage Total Mixed Rations. *Animals*, 12, 2039. <https://doi.org/10.3390/ani12162039>
- Zeru, A.E.; Hassen, A.; Apostolides, Z.; Tjelele, J. 2022. Screening of Candidate Bioactive Secondary Plant Metabolite Ion-Features from *Moringa oleifera* Accessions Associated with High and Low Enteric Methane Inhibition from Ruminants. *Metabolites*, 12, 501. <https://doi.org/10.3390/metabo12060501>
- Zhou, Y.; Zhang, A.; van Klinken, R.D.; Wang, J. 2024. Understanding Consumers' Purchase Intention Towards Meat Produced Without Preventive Antibiotic Use. *Foods*, 13, 3779. <https://doi.org/10.3390/foods13233779>

CAPÍTULO 4 – ARTIGO 3

EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE *Moringa oleifera* SOBRE O HAMBÚRGUER DE CARNE OVINA: CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS, SENSORIAL E AÇÃO ANTIOXIDANTE³

Gustavo Daniel Vega Britez¹; Carolina González Aquino¹; Bianca Bruna Nascimento Ribeiro¹; Ana Beatriz dos Santos¹; Elenice Souza dos Reis Goes¹; Claudia Andrea Lima Cardoso²; Tatiane Fernandes³, Fernando Miranda de Vargas Junior¹

¹Universidade Federal da Grande Dourados. Faculdade de Ciências Agrárias. Dourados, MS, Brasil.

²Universidade Estadual de Mato Grosso Do Sul, Dourados, MS, Brasil.

³Virginia Tech - Virginia Polytechnic Institute and State University, United States.

Resumo

A oxidação lipídica é um dos principais fatores de deterioração de produtos cárneos processados, e a demanda por alternativas naturais aos antioxidantes sintéticos tem estimulado o interesse em extratos vegetais bioativos. O extrato aquoso de folhas de *Moringa oleifera* (EAMO) é rico em compostos fenólicos, flavonoides e taninos com potencial antioxidante documentado em ensaios *in vitro*, mas sua eficácia em sistemas cárneos durante o armazenamento permanece pouco estudada. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da incorporação de EAMO em hambúrgueres de carne ovina sobre a composição centesimal, a capacidade antioxidante (ABTS e DPPH), a oxidação lipídica (TBARS), o pH, os atributos de cor, as características de cozimento e a aceitação sensorial ao longo de 90 dias de armazenamento congelado (-18 °C). Quatro tratamentos foram avaliados: controle (0,1% de ácido ascórbico); e inclusão de EAMO a 2%, 4% e 6%. O EAMO apresentou teor de fenólicos totais de 234,55 mg AGE/g, flavonoides de 56,37 mg RE/g, taninos de 24,40 mg ATE/g e IC₅₀ (DPPH) de 74,27 µg/mL. Nos hambúrgueres, o teor de

³ Este capítulo corresponde ao artigo científico submetido à revista *Journal of Food Science* [ISSN:1750-3841] e encontra-se em avaliação para publicação.

minerais aumentou linearmente com o nível de EAMO ($P<0,01$) em todos os tempos avaliados, enquanto o teor de proteínas não foi afetado. A capacidade sequestrante de radicais livres pelo método ABTS e DPPH foi significativamente superior no controle com ácido ascórbico em relação a todos os níveis de EAMO na maioria dos tempos de armazenamento ($P<0,01$), indicando que o EAMO não superou o antioxidante sintético no sistema cárneo nas concentrações avaliadas. Os valores de TBARS revelaram comportamento bifásico: ao dia 0, o EAMO elevou a oxidação lipídica de forma dose-dependente em relação ao controle; ao dia 90, o EAMO a 2% apresentou os menores valores de TBARS entre todos os tratamentos. O pH dos hambúrgueres diminuiu linearmente com o nível de EAMO ($P<0,01$) em todos os tempos. A luminosidade (L) foi reduzida progressivamente com o aumento do EAMO em hambúrgueres crus e grelhados, evidenciando escurecimento dose-dependente. O rendimento de cozimento diminuiu e o encolhimento dimensional aumentou com o incremento de EAMO ($P<0,01$). A análise de componentes principais da análise sensorial indicou associação negativa entre concentrações crescentes de EAMO e os atributos hedônicos avaliados pelos consumidores. Conclui-se que o EAMO a 2% apresenta o perfil mais favorável para incorporação em hambúrgueres de carne ovina, com potencial protetor tardio contra a oxidação lipídica, embora sem superar o ácido ascórbico como antioxidante no sistema cárneo durante o período avaliado.

Palavras-chave: *Moringa oleifera*; compostos fenólicos; oxidação lipídica; hambúrguer ovino; armazenamento congelado; análise sensorial.

1. Introdução

A oxidação lipídica é reconhecida como um dos principais fatores de deterioração da qualidade em produtos cárneos processados, comprometendo o sabor, a cor, o valor nutritivo e a segurança microbiológica (Cózar et al. 2018; Domínguez et al. 2019). Em hambúrgueres, cuja formulação inclui carnes moídas com elevado conteúdo lipídico e ampla superfície de contato com o oxigênio, esse processo é acelerado pelas condições de processamento e armazenamento, com reflexos diretos na vida útil do produto (Amaral et al. 2018; Domínguez et al. 2022). Os produtos resultantes dessa deterioração comprometem a aceitação sensorial do

produto e representam perdas econômicas e tecnológicas significativas ao longo da cadeia de produção e distribuição (Falowo et al. 2014).

A utilização de antioxidantes é a principal estratégia para retardar a oxidação em produtos cárneos (Lorenzo et al. 2018). Embora os antioxidantes sintéticos como BHA, BHT e ácido ascórbico sejam eficazes e amplamente empregados, a crescente demanda dos consumidores por produtos com ingredientes de origem natural e o escrutínio regulatório sobre aditivos sintéticos têm estimulado a pesquisa por alternativas naturais (Lorenzo et al. 2018; Pires et al. 2017; Kumar et al. 2015; Dawidowicz et al. 2015; Khezerlou et al. 2022; Esazadeh et al. 2024; Lorenzo et al. 2019; Hadidi et al. 2022). Nesse contexto, extratos vegetais ricos em compostos fenólicos têm demonstrado potencial antioxidante relevante em sistemas cárneos (Lorenzo et al. 2019; Hadidi et al. 2022; de Carvalho et al. 2019).

Moringa oleifera Lam (MO) é uma espécie vegetal de ampla distribuição tropical, cujas folhas apresentam elevado conteúdo de compostos fenólicos, flavonoides, isotiocianatos e outros metabólitos secundários com reconhecidas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (Anwar et al. 2007; Deepali et al. 2025; Abdallah et al. 2023). Estudos em produtos cárneos têm demonstrado o potencial de extratos e farinhas de MO para retardar a oxidação lipídica, inibir o crescimento microbiano e preservar a qualidade sensorial de hambúrgueres e patês de diferentes espécies (Falowo et al. 2018; Mashau et al. 2021a; Al-Juhaimi et al. 2016; Das et al. 2012; Das et al. 2024; Muthukumar et al. 2014; Elhadi et al. 2017; Ezz El-Din Ibrahim et al. 2022; Mashau et al. 2021b).

Falowo et al. (2018) e Mashau et al. (2021a) reportaram, em revisão abrangente e estudo experimental com carne bovina moída, respectivamente, reduções significativas nos valores de TBARS e manutenção dos atributos de cor em produtos tratados com MO. De forma complementar, Al-Juhaimi et al. (2016) demonstraram em hambúrgueres bovinos que diferentes níveis de farinha de sementes de MO reduziram a oxidação lipídica e influenciaram a composição centesimal, evidenciando que o efeito preservativo se manifesta em diferentes formas de apresentação do ingrediente. Esse potencial foi igualmente documentado em outras espécies: Das et al. (2012) verificaram redução da peroxidação lipídica em patês de caprinos, enquanto Muthukumar et al. (2014) reportaram resultados

similares em patês suínos, indicando que a eficácia não é restrita a uma única matriz cárnea. Em carne ovina especificamente, Mashau et al. (2021b) e Khomola et al. (2021) reportaram resultados promissores com EAMO e com farinha de folhas de MO, respectivamente, evidenciando melhoria dos parâmetros oxidativos e sensoriais durante o armazenamento refrigerado. Apesar dessas evidências, estudos avaliando o EAMO em hambúrgueres de carne ovina durante armazenamento congelado prolongado são escassos, e a comparação direta com antioxidantes sintéticos convencionais em condições padronizadas permanece limitada na literatura.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da incorporação do EAMO em diferentes concentrações (2%, 4% e 6%) sobre a composição centesimal, a capacidade antioxidante, a oxidação lipídica (TBARS), o pH, os atributos de cor, as características de cozimento e a aceitação sensorial de hambúrgueres de carne ovina armazenados sob congelamento (-18 °C) por 90 dias, comparando-os a um controle formulado com ácido ascórbico (0,1%).

2. Materiais e Métodos

2.1 Preparação do EAMO

A preparação do EAMO seguiu a metodologia proposta por Kholif et al. (2018), com adaptações para obtenção do extrato na forma de pó. Folhas de *Moringa oleífera* foram coletadas aleatoriamente de diversas árvores jovens e maduras da fazenda experimental da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Mato Grosso do Sul, durante o período de verão. As amostras foram identificadas taxonomicamente e depositadas no Herbário da UFGD sob o número DDMS8141 (<https://ddms.jbrj.gov.br/v2/ficha.php?chtestemunho=8141>). As folhas foram imediatamente secas em estufa de ventilação forçada de ar a 60 °C por 72 horas e, em seguida, moídas. A extração foi realizada na proporção de 1 kg de matéria seca de pó de folhas para 8 L de água destilada. Os materiais foram embebidos em frascos fechados e incubados a 30 °C por 72 horas. Após a incubação, o material foi filtrado por quatro camadas de gaze, descartando-se a fração sólida e retraindo-se a fração líquida, que foi evaporada em estufa de ventilação forçada de ar a 40 °C até peso constante, resultando no extrato em pó. O

EAMO foi preparado em lote único; as sobras foram acondicionadas a -18 °C em recipiente protegido com papel alumínio até o momento de uso.

2.2 Composição fitoquímica do EAMO

Os extratos obtidos foram submetidos à prospecção fitoquímica segundo a metodologia de Matos (2009). Para confirmação das classes de metabólitos secundários, utilizou-se o procedimento de Wagner e Bladt (2009). As análises qualitativas abrangeram: compostos fenólicos, naftoquinonas, flavonoides, taninos, cumarinas, triterpenos e esteroides, heterosídeos cianogênicos, heterosídeos cardioativos, alcaloides, saponinas e açúcares redutores. As intensidades foram classificadas como: reação negativa (-); intensidade parcial (+; 10%); baixa (++; 50%); média (+++; 75%); e alta intensidade (++++; 100%).

2.2.1 Quantificação dos compostos fenólicos, flavonoides e taninos

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Djeridane et al. 2006), com ácido gálico como padrão, e os resultados expressos em mg AGE/g de extrato. O teor de flavonoides foi determinado pelo método do cloreto de alumínio (Djeridane et al. 2006), com rutina como padrão, e os resultados expressos em mg RE/g. O teor de taninos foi determinado pelo método de Folin-Denis (Pansera et al. 2003), com ácido tânico como referência, e os resultados expressos em mg ATE/g.

2.2.2 Potencial antioxidante

O potencial antioxidante do EAMO foi determinado pelo método de captura do radical livre DPPH, conforme Kumaran e Karunakaran (2006). A concentração inibitória de 50% dos radicais (IC₅₀) foi calculada por regressão linear. Os resultados foram expressos em µg/mL.

2.3 Formulação e preparo dos hambúrgueres

Foram elaborados hambúrgueres de carne ovina utilizando paleta de ovelha Pantaneira (80% carne e 20% gordura dorsal). Os tratamentos avaliados foram: controle (CON) - 0,1% de ácido ascórbico; e 3 níveis de EAMO em pó: 2% (EAMO2),

4% (EAMO4) e 6% (EAMO6), em substituição proporcional ao antioxidante convencional. Os hambúrgueres foram elaborados conforme Instrução Normativa nº 20 do MAPA (Brasil 2000), embalados individualmente em filme de policloreto de vinila (PVC), acondicionados em embalagem de alumínio e armazenados a -18 °C. As avaliações foram realizadas nos dias 0, 30, 60 e 90 do armazenamento.

2.4 Avaliação de hambúrgueres crus

2.4.1 Reagentes químicos

Os solventes e reagentes utilizados (etanol, metanol, ácido acético, cloreto de alumínio, reagente de Folin-Ciocalteu, DPPH, ABTS, persulfato de potássio, Trolox e ácido tiobarbitúrico) eram de grau analítico (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil), salvo indicação contrária específica nos métodos.

2.4.2 Cor

A avaliação da cor dos hambúrgueres crus foi realizada com colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta, Osaka, Japão), com iluminante D65 e observador padrão 10°, por meio do sistema CIELab (L, a, b). Foram realizadas três leituras por amostra, calculando-se os valores de Chroma ($C = \sqrt{a^2 + b^2}$) e Hue ($h = \arctg[b/a]$), conforme Hirata et al. (2019).

2.4.3 Composição centesimal

As análises de umidade (925.10), proteína bruta (928.08), extrato etéreo (920.39) e cinzas (920.153) foram determinadas conforme AOAC (2020). Os resultados foram expressos em g/100 g de produto.

2.4.4 Capacidade antioxidante - ABTS

A capacidade antioxidante pelo método ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) foi determinada conforme Miller e Rice-Evans (1997), com resultados expressos em percentagem de inibição (%I). As análises de ABTS e DPPH nos hambúrgueres foram realizadas após extração dos compostos fenólicos com solução de metanol:água:ácido acético (70:29,5:0,5 v/v/v). Os extratos foram filtrados e utilizados imediatamente para análise.

2.4.5 Capacidade antioxidante - DPPH

A capacidade antioxidante pelo radical DPPH foi determinada conforme de Carvalho et al. (2019), em solução de 0,25 mmol/L de DPPH, com leitura da absorbância a 541 nm, e os resultados expressos em percentagem de inibição (%I).

2.4.6 Oxidação lipídica (TBARS)

A oxidação lipídica foi determinada pelo método do ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme Babiker et al. (2019), com resultados expressos em mg de malonaldeído (MDA) por kg de amostra (mg MDA/kg).

2.4.7 pH

O pH foi medido utilizando um medidor de pH (Testo 205, Testo, Lenzkirch, Alemanha) de sonda. As leituras foram realizadas em triplicata. A calibração do medidor de pH foi realizada utilizando soluções tampão (pH 7,0 e pH 4,0) à temperatura ambiente.

2.5 Avaliação de hambúrgueres grelhados

Os hambúrgueres foram grelhados em chapa elétrica (180 °C) até atingir temperatura interna de 70 °C, monitorada com termômetro digital de haste. As análises de cor foram realizadas conforme descrito na seção 2.4.2.

2.5.1 Rendimento de cozimento e encolhimento dimensional

O rendimento de cozimento foi calculado pela relação entre o peso do hambúrguer grelhado e o peso cru, expresso em percentagem. O encolhimento dimensional foi determinado pela medição do diâmetro antes e após o cozimento com paquímetro digital, expresso em percentagem de redução.

2.5.2 Força de cisalhamento

A força de cisalhamento (N) dos hambúrgueres de carne ovina grelhado foi determinada com texturômetro TA.XT Plus (TA.XT Plus, Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Reino Unido), equipado com lâmina Warner-Bratzler, conforme (Hirata et al., 2019).

2.6 Análise sensorial

Os testes foram realizados utilizando aleatoriamente com 54 provadores não treinados, realizando seis sessões com nove consumidores diferentes cada. Cada consumidor avaliou quatro amostras codificadas com um código aleatório de três dígitos por sessão, correspondente aos diferentes tratamentos. As amostras foram servidas em um delineamento randomizado para evitar efeitos de ordem e transposição (Macfie et al., 1989). Os consumidores foram solicitados a provar e avaliar cada amostra sobre a aceitabilidade de seis atributos (aparência, cor, sabor, textura, suculência e impressão global) usando uma escala de 9 pontos, variando de 1 (desgostei extremamente) a 9 (gostei muitíssimo). Os consumidores foram convidados a comer biscoito água e sal e enxaguar a boca com água antes de avaliar cada amostra, incluindo a primeira amostra.

2.7 Análise estatística

O experimento foi conduzido segundo um delineamento em parcelas subdivididas no tempo, tendo tratamento como fator da parcela principal e tempo como fator da subparcela. Os tratamentos das parcelas principais foram alocados às unidades experimentais, e os tratamentos das subparcelas foram aplicados repetidamente dentro de cada parcela principal ao longo do tempo. Os tratamentos foram: Controle (0,1 % de ácido ascórbico); EAMO 2%; EAMO 4%; EAMO 6%. Os tempos de avaliação foram: 0, 30, 60 e 90 dias.

Os dados foram analisados utilizando o pacote “lm” do software R versão 4.3.3 (R Core Team, 2024), utilizando o seguinte modelo:

$$Y_{jk} = \mu + Treatment_j + Time_k + Treatment*Time_{jk} + \varepsilon_{jk}$$

Onde Y_{ijk} representa a variável dependente, μ é a média da população, $Treatment_j$ representa o efeito de tratamento ($j = 4$), $Time_k$ representa o efeito de tempo ($k = 4$), $Treatment*Time_{jk}$ representa a interação entre tratamento e tempo e ε_{jk} representa a variância residual.

Os outliers foram removidos antes das análises caso os resíduos studentizados do modelo excedessem um valor absoluto de 3. Os dados foram apresentados como médias de mínimos quadrados (LSM) acompanhadas do respectivo SEM. Contrastes ortogonais pré-planejados, incluindo contrastes

polinomiais para os níveis de EAMO, foram avaliados utilizando a função de “contrast” do pacote “emmeans” no R, utilizando a seguinte estrutura: C1 = Controle vs. tratamentos com EAMO; C2 = EAMO 2% vs. EAMO 6% (testando a tendencia linear dos níveis); C3 = EAMO 2% vs. EAMO 4% vs. EAMO 6% (testando a tendencia quadrática dos níveis). A significância foi declarada para $P \leq 0,05$, e as tendências, para $0,05 < P \leq 0,10$.

Os resultados de avaliação sensorial foram avaliados utilizando o programa R versão 4.3.3 (2024), incluiu análise de componentes principais (PCA) usando o pacote “ggbiplot”, centrado na média com column scaling GH (CMP). Para a gerar o biplot, foram incluídos os dados numéricos de EAMO, dias, escala de aparência, cor, sabor, textura, suculência, impressão global e intenção de compra e características do avaliador (faixa etária, frequência de consumo de hambúrguer, frequência de consumo de carne ovina).

3. Resultados

3.1 Caracterização do EAMO

A análise fitoquímica qualitativa do EAMO confirmou a presença de compostos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas, triterpenos, esteroides e alcaloides (Tabela 1). Na quantificação, o teor de fenólicos totais foi de 234,55 mg AGE/g de extrato, o de flavonoides de 56,37 mg RE/g e o de taninos de 24,40 mg ATE/g. O IC_{50} para o radical DPPH foi de 74,27 $\mu\text{g/mL}$, indicando potencial antioxidante moderado do EAMO.

Tabela 1. Compostos bioativos de extrato aquoso de *Moringa oleifera* - EAMO (média $\pm$ desvio padrão para TCF, TF, TT e DPPH)

Compostos bioativos	Extrato aquoso de <i>Moringa oleifera</i>
Compostos fenólicos*	++
Flavonoides*	++
Taninos*	++
Naftoquinona*	-
Cumarinas*	+
Triterpenos e esteroides*	-

Heterosídeos cianogênicos*	+
Heterosídeos cardioativos*	+
Açúcares redutores*	+
Saponinas*	+
Alcaloides*	-
TCF (mg AGE g ⁻¹)	234,55±0,07
TF (mg RE g ⁻¹)	56,37±0,15
TT (mg ATE g ⁻¹)	24,40±0,10
DPPH (IC ₅₀ - µg mL ⁻¹)	74,27±0,06

*Classificações das intensidades das reações: 0 (zero) para reação negativa (-), intensidade parcial (+ = 10%), baixa (++ = 50%), média (+++ = 75%) e alta intensidade (++++ = 100%). TCF: teor de compostos fenólicos (mg/g), TF: teor de flavonoides (mg/g), TT: teor de taninos (mg/g), DPPH: (1,1-difenil-2-picrilhidrazil).

3.2 Composição centesimal dos hamburques

O teor de minerais foi significativamente afetado pela adição de EAMO em todos os tempos de avaliação (C1: $P<0,01$; C2: $P<0,01$), com aumento linear proporcional à concentração do extrato em relação ao controle. O teor de proteína bruta não diferiu significativamente entre os tratamentos em nenhum tempo avaliado ($P>0,05$), indicando que a incorporação do EAMO não diluiu nem adicionou proteína relevante à formulação nas concentrações estudadas. Esses resultados demonstram que o EAMO modificou parcialmente a composição do produto, especialmente quanto ao teor mineral.

A umidade foi significativamente afetada pelos tratamentos na maioria dos tempos avaliados (C1: $P<0,01$; C2: $P<0,01$), com redução progressiva em função do aumento na concentração de EAMO nos dias 30, 60 e 90. No dia 0, o comportamento foi não-monotônico, com o EAMO6 apresentando maior umidade que os demais tratamentos com EAMO. O teor de lipídios apresentou padrão complexo de interação com o tempo (Tabela 2): no dia 0, o tratamento EAMO6 apresentou menor conteúdo lipídico em relação ao controle (C1: $P=0,01$; C2: $P<0,01$), enquanto nos dias 60 e 90 os tratamentos com EAMO tenderam a apresentar maiores teores de lipídios, reflexo, em parte, da redução concomitante de umidade que concentra os demais componentes na base úmida. Além da

composição centesimal, foram observados efeitos do EAMO sobre as características oxidativas do produto.

Tabela 2. Composição centesimal de hambúrguer de carne ovina cru formulado com diferentes concentrações de EAMO durante o armazenamento a -18°C.

	Dia	Tratamentos				SEM	p-value contrastes		
		CON	EAMO 2	EAMO 4	EAMO 6		CON vs. EAMO	Lin	Quad
Umidade (%)	0	69.6	68.1	66.6	71.3	0.07	< 0.01	< 0.01	< 0.01
	30	69.1	68.3	66.9	66.5		< 0.01	< 0.01	< 0.01
	60	69.1	67.5	66.5	65.5		< 0.01	< 0.01	0.66
	90	69.0	68.3	67.3	66.0		< 0.01	< 0.01	0.31
Proteína (%)	0	14.2	15.5	15.9	14.2	0.60	0.15	0.15	0.16
	30	17.8	18.1	17.2	17.5		0.78	0.51	0.47
	60	16.3	16.9	16.3	15.8		0.96	0.20	0.95
	90	16.8	17.3	17.4	17.9		0.30	0.51	0.80
Minerais (%)	0	2.6	2.8	2.8	2.6	0.04	0.03	< 0.01	0.01
	30	2.5	2.9	3.0	3.1		< 0.01	< 0.01	0.65
	60	2.6	2.9	3.1	3.3		< 0.01	< 0.01	0.94
	90	2.7	2.9	3.1	3.4		< 0.01	< 0.01	0.80
Lipídios (%)	0	20.7	20.0	21.9	15.7	0.45	0.01	< 0.01	< 0.01
	30	20.5	20.8	21.3	20.6		0.41	0.74	0.28
	60	20.5	21.5	22.5	23.3		< 0.01	0.01	0.78
	90	18.9	19.5	20.5	20.0		0.05	0.44	0.18

CON: Controle; EAMO2: EAMO 2%; EAMO4: EAMO 4%; EAMO6: EAMO 6%; Lin: lineal; Quad: Quadrática

3.3 Capacidade antioxidante, oxidação lipídica e pH dos hamburques

A capacidade sequestrante de radicais pelo método ABTS foi significativamente superior no controle em relação a todos os tratamentos com EAMO nos dias 0, 30 e 60 (C1: $P < 0,01$; C2: $P < 0,01$ em todos os tempos), com diminuição linear proporcional ao aumento da concentração do extrato. No dia 90, a diferença entre o controle e os tratamentos com EAMO não atingiu significância estatística (C1: $P = 0,16$), embora a tendência linear negativa permanecesse significativa (C2: $P < 0,01$).

De forma análoga, os valores de DPPH foram consistentemente superiores no controle em relação a todos os níveis de EAMO em todos os tempos avaliados (C1: $P < 0,01$; C2: $P < 0,01$), com decréscimo linear significativo conforme o aumento da concentração do extrato. Efeito quadrático significativo foi detectado nos dias 60 e 90 (C3: $P = 0,04$ e $P = 0,06$, respectivamente).

Os valores de TBARS revelaram comportamento temporal e concentração-dependente (Tabela 3). No dia 0, os valores aumentaram de forma progressiva e significativa com a concentração de EAMO em relação ao controle (C1: $P < 0,01$; C2: $P < 0,01$), indicando maior oxidação lipídica inicial nos tratamentos com EAMO. No dia 30, o padrão foi não-linear (C3: $P < 0,01$), com EAMO4 apresentando valores inferiores ao EAMO2 e EAMO6. Nos dias 60 e 90, o efeito do contraste C1 foi significativo (dias 60: $P = 0,04$; dia 90: $P < 0,05$ para tendência linear inversa), com o tratamento EAMO2 apresentando os menores valores de TBARS ao dia 90, inferiores ao controle, ao EAMO4 e ao EAMO6. O pH foi reduzido progressivamente com o aumento da concentração de EAMO em todos os tempos avaliados (C1: $P < 0,01$; C2: $P < 0,01$), com os menores valores observados no tratamento EAMO6 em cada tempo de avaliação (Tabela 3).

Tabela 3. Características oxidativas e pH de hambúrguer de carne ovina cru formulado com diferentes concentrações de EAMO durante o armazenamento a -18°C .

	Dia	Tratamentos				SEM	p-value contrastes		
		CON	EAMO 2	EAMO 4	EAMO 6		CON vs. EAMO	Lin	Quad
ABTS (%)	0	87.3	84.6	75.2	68.0	2.87	< 0.01	< 0.01	0.76
	30	84.7	76.9	70.3	62.0		< 0.01	< 0.01	0.81
	60	71.3	71.4	67.7	39.5		< 0.01	< 0.01	< 0.01
	90	81.9	83.0	81.8	66.6		0.16	< 0.01	0.05
DPPH (%)	0	88.4	78.7	69.5	58.4	1.93	< 0.01	< 0.01	0.68
	30	85.6	75.0	63.8	48.8		< 0.01	< 0.01	0.44
	60	86.0	73.8	64.1	44.4		< 0.01	< 0.01	0.04
	90	87.3	70.8	62.6	45.5		< 0.01	< 0.01	0.06
TBARS (mg/kg)	0	0.64	0.76	1.67	2.38	0.104	< 0.01	< 0.01	0.42
	30	0.56	1.04	0.62	1.49		< 0.01	< 0.01	< 0.01

	60	0.59	0.87	0.67	0.99		0.04	0.43	0.04
	90	0.34	0.11	0.19	0.56		0.70	< 0.01	0.24
pH	0	5.93	5.71	5.60	5.48	0.026	< 0.01	< 0.01	0.69
	30	6.37	6.09	5.88	5.78		< 0.01	< 0.01	0.10
	60	6.19	5.87	5.77	5.59		< 0.01	< 0.01	0.22
	90	6.09	5.88	5.63	5.50		< 0.01	< 0.01	0.07

CON: Controle; EAMO2: EAMO 2%; EAMO4: EAMO 4%; EAMO6: EAMO 6%; Lin: lineal; Quad: Quadrática

3.4 Cor de hambúrgueres crus

A luminosidade (L^*) dos hambúrgueres crus foi significativamente reduzida pela adição de EAMO em todos os tempos avaliados (C1: $P < 0,01$; C2: $P < 0,01$), indicando escurecimento progressivo e proporcional à concentração do extrato em relação ao controle (Tabela 4). Os valores de a^* (intensidade do vermelho) não diferiram significativamente entre o controle e os tratamentos com EAMO nos dias 0, 30 e 90 (C1: $P > 0,05$); no dia 60, o controle apresentou maior a que os tratamentos com EAMO (C1: $P = 0,02$). Os valores de b^* (intensidade do amarelo) apresentaram tendência linear significativa em todos os tempos (C2: $P < 0,01$), com redução proporcional à concentração de EAMO. O Chroma (C^*) (saturação de cor) foi significativamente menor nos tratamentos com EAMO em relação ao controle nos dias 0, 60 e 90 (C1: $P < 0,01$). O ângulo de Hue foi significativamente afetado pelos tratamentos nos dias 0 e 90 (C1: $P < 0,01$), com tendência linear de aumento com a concentração de EAMO, refletindo desvio cromático para tons mais amarelo-esverdeados.

Tabela 4. Cor de hambúrguer de carne ovina cru formulado com diferentes concentrações de EAMO durante o armazenamento a -18°C .

	Dia	Tratamentos				SEM	p-value contrastes		
		CON	EAMO 2	EAMO 4	EAMO 6		CON vs. EAMO	Lin	Quad
L^*	0	50.21	41.81	37.08	33.98	0.837	< 0.01	< 0.01	0.43
	30	54.24	43.38	36.09	31.81		< 0.01	< 0.01	0.14
	60	51.13	42.49	42.81	33.25		< 0.01	< 0.01	< 0.01
	90	53.25	46.18	41.46	38.75		< 0.01	< 0.01	0.33
a^*	0	7.85	7.76	7.45	7.78	0.893	0.86	0.98	0.77

	30	7.93	7.81	8.14	8.82		0.75	0.43	0.87
	60	8.44	6.04	5.99	5.98		0.02	0.96	0.98
	90	6.39	5.64	5.56	4.66		0.29	0.44	0.71
b*	0	11.65	13.12	11.49	10.40	0.837	0.98	0.02	0.80
	30	11.38	14.16	11.24	10.06		0.65	< 0.01	0.40
	60	10.06	8.56	11.58	5.29		0.10	0.01	< 0.01
	90	9.82	9.63	7.22	5.18		0.01	< 0.01	0.86
Chroma	0	17.39	15.27	13.77	13.08	0.808	< 0.01	0.06	0.69
	30	13.88	16.19	13.92	13.39		0.51	0.02	0.38
	60	13.18	10.50	13.26	8.00		0.01	0.03	< 0.01
	90	11.73	11.19	9.15	6.98		0.01	< 0.01	0.95
Hue	0	42.21	59.24	56.43	52.25	1.438	< 0.01	< 0.01	0.70
	30	55.19	60.95	53.38	48.70		0.61	< 0.01	0.41
	60	49.98	54.72	58.57	40.84		0.40	< 0.01	< 0.01
	90	57.05	59.51	51.96	47.93		0.02	< 0.01	0.32

CON: Controle; EAMO2: EAMO 2%; EAMO4: EAMO 4%; EAMO6: EAMO 6%; Lin: lineal; Quad: Quadrática

3.5 Cor de hamburguer grelhado

Após o cozimento, a luminosidade (*L*) foi consistentemente menor nos tratamentos com EAMO do que no controle em todos os tempos avaliados (C1: $P < 0,01$; Tabela 5), confirmando que o escurecimento induzido pelo EAMO não foi revertido pelo processo térmico. Os valores de *a* foram significativamente reduzidos pelo EAMO nos dias 0 e 60 (C1: $P = 0,01$ e $P < 0,01$, respectivamente), mas não diferiram no dia 30 (C1: $P = 0,42$); no dia 90, observou-se tendência (C1: $P = 0,06$). Os valores de *b* foram fortemente reduzidos pela adição de EAMO (C1: $P < 0,01$ na maioria dos tempos), com diminuição linear proporcional à concentração (C2: $P < 0,01$). O Chroma foi significativamente menor nos tratamentos com EAMO nos dias 30, 60 e 90 (C1: $P < 0,01$). O Hue apresentou diferença significativa nos dias 0 e 90 (C1: $P < 0,01$).

Tabela 5. Cor de hambúrguer de carne ovina grelhado formulado com diferentes concentrações de EAMO durante o armazenamento a -18°C.

	Dia	Tratamentos				SEM	p-value contrastes		
		CON	EAMO2	EAMO4	EAMO6		CON vs. EAMO	Lin	Quad
L*	0	44.07	35.26	34.44	31.98	1.380	< 0.01	0.09	0.63
	30	46.45	41.71	39.42	35.78		< 0.01	< 0.01	0.69
	60	46.75	40.08	36.68	34.84		< 0.01	0.01	0.64
	90	47.05	39.81	37.42	34.19		< 0.01	< 0.01	0.80
a*	0	6.34	5.80	5.12	5.18	0.340	0.01	0.20	0.38
	30	5.94	6.26	5.52	5.10		0.42	0.02	0.71
	60	6.22	5.27	6.29	3.53		< 0.01	< 0.01	< 0.01
	90	5.97	5.98	5.13	4.53		0.06	< 0.01	0.76
b*	0	7.93	4.66	2.74	2.76	0.868	< 0.01	0.12	0.36
	30	7.64	7.03	5.50	2.96		0.01	< 0.01	0.64
	60	9.27	5.52	10.12	1.39		< 0.01	< 0.01	< 0.01
	90	9.49	5.71	3.56	2.35		< 0.01	0.01	0.66
Chroma	0	10.20	7.45	5.85	5.97	0.837	< 0.01	0.21	0.40
	30	10.27	9.44	7.81	5.95		0.01	< 0.01	0.91
	60	11.22	7.70	12.09	3.82		< 0.01	< 0.01	< 0.01
	90	11.24	8.28	6.26	5.12		< 0.01	0.01	0.67
Hue	0	56.18	49.39	50.40	51.91	0.502	< 0.01	< 0.01	0.69
	30	50.65	48.89	51.38	53.10		0.42	< 0.01	0.54
	60	52.68	50.86	49.83	56.92		0.80	< 0.01	< 0.01
	90	50.05	49.34	51.93	53.46		0.01	< 0.01	0.39

CON: Controle; EAMO2: EAMO 2%; EAMO4: EAMO 4%; EAMO6: EAMO 6%; Lin: lineal; Quad: Quadrática

3.6 Parâmetros tecnológicos e força de cisalhamento

O rendimento de cozimento foi significativamente menor nos tratamentos com EAMO em relação ao controle nos dias 0, 30 e 60 (C1: $P < 0,01$; C2: $P < 0,01$), com decréscimo linear proporcional à concentração do extrato (Tabela 6). No dia 90, a diferença permaneceu significativa (C1: $P = 0,03$), embora a tendência linear não tenha atingido significância (C2: $P = 0,42$). O encolhimento dimensional seguiu padrão inverso ao rendimento, com aumento significativo proporcional ao EAMO nos dias 0, 30 e 60 (C1: $P < 0,01$; C2: $P < 0,01$). A contração não diferiu significativamente entre

os tratamentos nos dias 0, 30 e 60 (C1: $P>0,05$), mas apresentou diferença significativa no dia 90 (C1: $P<0,01$; C2: $P<0,01$).

A força de cisalhamento diferiu entre os tratamentos no dia 0 (C1: $P=0,02$; C3: $P=0,01$), com efeito quadrático significativo: o tratamento EAMO4 apresentou o maior valor, seguido por EAMO6, EAMO2 e controle. Nos dias 30, 60 e 90, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($P>0,07$).

Tabela 6. Características de cozimento e textura de hambúrguer de carne ovina grelhado formulado com diferentes concentrações de EAMO durante o armazenamento a -18°C .

	Dia	Tratamentos				SEM	p-value contrastes		
		CON	EAMO2	EAMO4	EAMO6		CON vs. EAMO	Lin	Quad
Rendimento de cozimento (%)	0	76.17	74.49	64.25	67.27	1.655	< 0.01	0.01	< 0.01
	30	83.61	80.98	69.24	65.99		< 0.01	< 0.01	0.05
	60	84.73	78.52	81.82	61.91		< 0.01	< 0.01	< 0.01
	90	86.90	85.51	78.23	83.58		0.03	0.42	0.01
Encolhimento dimensional (%)	0	23.83	25.51	35.75	32.73	1.655	< 0.01	0.01	< 0.01
	30	16.39	19.02	30.76	34.01		< 0.01	< 0.01	0.05
	60	15.27	21.48	18.18	38.09		< 0.01	< 0.01	< 0.01
	90	13.10	14.49	21.77	16.42		0.03	0.42	0.01
Contração Cozimento (%)	0	19.35	19.26	21.56	17.77	1.184	0.89	0.38	0.04
	30	17.05	13.98	19.77	17.29		0.98	0.05	0.01
	60	14.39	14.97	16.10	18.96		0.10	0.02	0.55
	90	15.83	14.35	12.26	8.04		< 0.01	< 0.01	0.46
Força de cisalhamento (N)	0	11.11	12.36	14.76	12.26	0.727	0.02	0.92	0.01
	30	9.78	11.02	11.39	11.50		0.07	0.64	0.88
	60	12.18	10.74	10.30	14.61		0.72	< 0.01	0.01
	90	9.21	9.72	10.56	9.73		0.34	0.99	0.35

CON: Controle; EAMO2: EAMO 2%; EAMO4: EAMO 4%; EAMO6: EAMO 6%; Lin: lineal; Quad: Quadrática

3.7 Análise sensorial

A análise de componentes principais (PCA) evidenciou separação entre os tratamentos ao longo do primeiro componente principal (CP1), que explicou a maior proporção da variância total (44,9%). Os tratamentos com maiores concentrações de

EAMO (4 e 6%) foram associados negativamente aos atributos hedônicos avaliados pelos consumidores (aparência, cor, sabor, textura, suculência e impressão global), enquanto o controle e o EAMO2 se posicionaram no quadrante positivo de CP1, associando controle e EAMO2 aos atributos hedônicos positivos. Os resultados indicam que a incorporação de EAMO em concentrações superiores a 2% impacta negativamente a percepção sensorial do hambúrguer de carne ovina pelos consumidores (Figura 1).

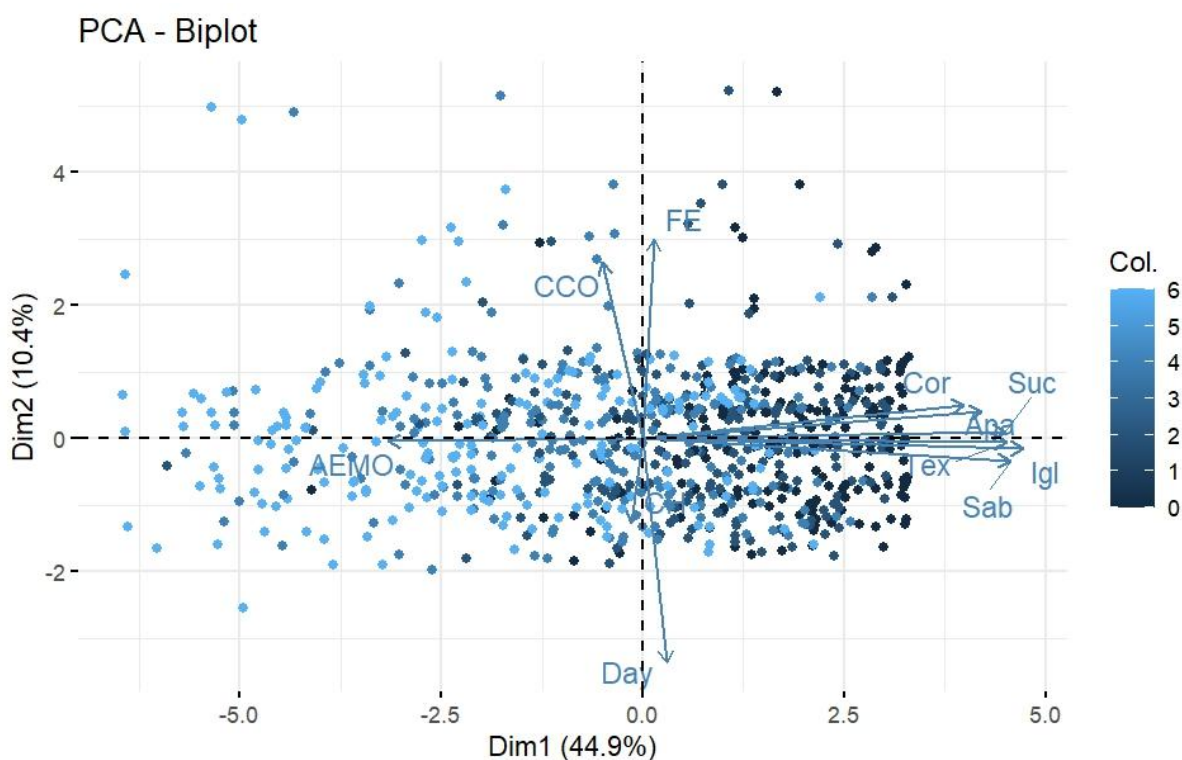


Figura 1. Biplot dos indivíduos e de fatores das variáveis (PCA). Cor representa os níveis de EAMO (EAMO; 0, 2, 4, ou 6%), dias (Day; 0, 30, 60, 90), escala de aparência (Apa), cor, sabor (Sab), textura (Tex), suculência (Suc), impressão global (Igl) e intensão de compra (Ic) e características do avaliador (faixa etária (FE), frequência de consumo de hambúrguer (CH), frequência de consumo de carne ovina (CCO)).

4. Discussão

4.1 Composição centesimal

O aumento linear no teor de minerais dos hambúrgueres com o incremento de EAMO reflete o perfil mineral reconhecidamente rico de folhas de *Moringa*

oleifera, que contêm concentrações relevantes de cálcio, ferro, potássio, magnésio e zinco (Anwar et al. 2007). Resultados similares foram reportados por Mashau et al. (2021b) em patês de carne ovina com EAMO e por Khomola et al. (2021) em patês com farinha de folhas de MO, em ambos os casos com aumentos proporcionais à concentração de extrato. A contribuição mineral do EAMO representa uma potencial vantagem nutricional da formulação, especialmente para produtos destinados a populações com deficiências de micronutrientes (Anwar et al. 2007). Esses resultados reforçam o potencial tecnológico do EAMO no sistema cárneo avaliado.

A ausência de efeito sobre o teor de proteínas é consistente com os achados de Mashau et al. (2021b) e Khomola et al. (2021), refletindo o fato de que as concentrações de EAMO avaliadas (2-6%) não representam aporte proteico relevante nem promovem diluição significativa da proteína da carne na formulação estudada. A redução de umidade observada na maioria dos tempos avaliados pode ser atribuída à interação de compostos fenólicos do EAMO com proteínas miofibrilares, modificando a capacidade de retenção de água da matriz cárnea (Domínguez et al., 2019; 2022). Mashau et al. (2021b) e Khomola et al. (2021) também reportaram reduções similares de umidade em patês de carne ovina formulados com EAMO e com farinha de folhas de MO, respectivamente, em padrão consistente com o observado no presente estudo. A variação não-monotônica de umidade no dia 0 para EAMO6 pode refletir a absorção inicial de água pelos componentes hidrofílicos do extrato em pó, antes que as interações fenólico-proteína se estabilizem durante o armazenamento.

O padrão complexo dos lipídios, com menor conteúdo no dia 0 para EAMO6 e incremento aparente nos dias 60 e 90, possivelmente resulta de dois mecanismos: no dia 0, interações fenólico-lipídio podem formar complexos que reduzem a extractabilidade dos lipídios durante a análise centesimal; nos dias subsequentes, a perda de umidade concentra os demais componentes, incluindo os lipídios, elevando seus valores relativos. Al-Juhaimi et al. (2016) observaram efeitos não-lineares de farinha de semente de MO sobre o conteúdo lipídico de hambúrgueres bovinos, destacando a complexidade dessas interações no sistema cárneo.

4.2 Características antioxidantes, oxidação lipídica e pH

Os resultados de ABTS e DPPH nos hambúrgueres indicaram que o controle com ácido ascórbico (0,1%) apresentou maior capacidade sequestrante de radicais livres do que todos os tratamentos com EAMO na maior parte do período de armazenamento. Essa superioridade do antioxidante sintético sobre extratos vegetais em sistemas cárneos tem sido documentada em outros estudos, que atribuem o fenômeno à maior estabilidade e biodisponibilidade do ácido ascórbico na matriz cárnea (Mostafa et al., 2025). Esse resultado, aparentemente contraintuitivo frente ao potencial antioxidante do EAMO documentado em ensaio *in vitro* (IC_{50} DPPH = 74,27 μ g/mL), reflete mecanismos bem estabelecidos na literatura sobre a eficácia de antioxidantes em matrizes cárneas complexas. O ácido ascórbico é um antioxidante hidrossolúvel amplamente utilizado em produtos cárneos, atuando como redutor direto de radicais livres e sinergista de outros antioxidantes (Hadidi et al., 2022; Lorenzo et al., 2018).

Compostos fenólicos de extratos vegetais, ao serem incorporados ao sistema cárneo, tendem a interagir com proteínas e lipídios da carne por meio de interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio, reduzindo sua concentração livre efetiva e sua capacidade de reação com os radicais nos ensaios ABTS e DPPH (Hadidi et al. 2022). Falowo et al. (2017) observaram que a eficácia antioxidante de extratos de MO em hambúrgueres bovinos variou em função da matriz e do método de ensaio empregado, com a atividade *in vitro* não refletindo necessariamente o comportamento no produto. Al-Baidhani et al. (2024) e Kartikasari et al. (2024) reportaram resultados similares com outros extratos vegetais em hambúrgueres bovinos, destacando que a atividade antioxidante medida diretamente no produto é sistematicamente inferior à medida no extrato puro.

O decréscimo linear na capacidade sequestrante de radicais com o aumento da concentração de EAMO (C2: $P < 0,01$) é consistente com o comportamento pró-oxidante de polifenóis em altas concentrações na presença de metais de transição, particularmente ferro e cobre, intrínsecos à matriz cárnea (Domínguez et al., 2019). A redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} mediada por polifenóis catalisa a reação de Fenton, gerando radicais hidroxila que iniciam a peroxidação lipídica (Domínguez et al., 2019), contrapondo-se ao efeito antioxidante esperado em altas concentrações (Martínez et al., 2020). Esse mecanismo explica, em parte, o maior valor de TBARS

observado nos hambúrgueres com EAMO no dia 0. Conforme destacado por Mostafa et al. (2025), a eficácia de antioxidantes naturais em sistemas cárneos é influenciada por múltiplos fatores, incluindo a concentração, a matriz alimentar e as condições de armazenamento, o que pode resultar em comportamento pró-oxidante em determinadas condições. Mashau et al. (2021b) reportaram comportamento similar em patês de carne ovina com EAMO, com maior oxidação lipídica inicial em tratamentos de maior concentração, e Das et al. (2012) e Muthukumar et al. (2014) destacaram que a eficácia antioxidante de extratos de MO em sistemas cárneos é dependente da concentração e do tempo de armazenamento.

O comportamento temporal bifásico dos TBARS, com inversão do padrão ao dia 90 (EAMO2 com menores valores que o controle), sugere que o EAMO a baixas concentrações pode exercer proteção antioxidante tardia durante o armazenamento congelado prolongado. Dois mecanismos podem contribuir para essa inversão: a redistribuição gradual dos compostos fenólicos na matriz durante o armazenamento, aumentando sua disponibilidade em sítios oxidativamente relevantes; e a degradação parcial do ácido ascórbico ao longo de 90 dias de congelamento, reduzindo a proteção antioxidante do controle (Hadidi et al. 2022). O efeito protetor do EAMO sobre a oxidação lipídica ao dia 90 é consistente com a eficácia antioxidante de extratos de MO documentada em outros sistemas cárneos durante armazenamento (Das et al. 2012; Muthukumar et al. 2014), embora as dinâmicas temporais possam variar em função da matriz, da forma de apresentação do extrato e das condições de conservação.

A redução de pH proporcional à concentração de EAMO é atribuída ao caráter ácido dos ácidos fenólicos presentes no extrato, cuja ionização na fase aquosa contribui para a acidificação do meio cárneo (Fernandes et al. 2017; Ahmed et al. 2022). Fernandes et al. (2017) observaram redução similar de pH em hambúrgueres de carne ovina com extrato de orégano, enquanto Ahmed et al. (2022) reportaram o mesmo fenômeno com polifenóis de cravo-da-índia em hambúrgueres bovinos. A menor pH nos tratamentos com EAMO pode exercer efeito preservativo indireto ao dificultar o crescimento de microrganismos deteriorantes, conforme documentado por Abdallah et al. (2023) para extratos de MO sobre carne

bovina moída. As alterações oxidativas observadas podem ter contribuído para as modificações de cor descritas a seguir.

4.3 Cor de hambúrgueres crus

O escurecimento progressivo dos hambúrgueres crus, evidenciado pela redução de L^* proporcional à concentração de EAMO, constitui o efeito mais consistente e pronunciado da incorporação do extrato. Esse fenômeno é amplamente reportado na literatura sobre incorporação de extratos vegetais ricos em compostos fenólicos e clorofila em produtos cárneos, e é atribuído à pigmentação inerente do extrato (coloração verde-acastanhada das folhas de MO) e à capacidade dos polifenóis de interagir com proteínas cárneas por meio de reações de oxidação, gerando pigmentos escuros (Domínguez et al. 2019; Falowo et al. 2018; Khomola et al. 2021). Mashau et al. (2021b) e Khomola et al. (2021) reportaram reduções similares de L^* em patês de carne ovina com EAMO e com farinha de MO, respectivamente, e os autores atribuíram o efeito aos pigmentos naturais do extrato. Falowo et al. (2018) observaram a mesma tendência em carne moída com extrato de MO. O escurecimento dose-dependente representa uma limitação prática da incorporação de EAMO a concentrações mais altas, especialmente para produtos em que a aparência é determinante da aceitação pelo consumidor.

A ausência de efeito significativo sobre a^* na maioria dos tempos avaliados indica que EAMO nas concentrações estudadas não comprometeu substancialmente a intensidade de vermelho nos estágios iniciais e intermediários de armazenamento. A redução de a^* observada no dia 60 pode refletir acúmulo de metamioglobina mediado por compostos fenólicos nesse período específico, fenômeno documentado por Ahmed et al. (2022) em hambúrgueres bovinos com polifenóis de cravo. O comportamento de b^* e Chroma indica redução de saturação cromática proporcional à concentração de EAMO, enquanto o desvio de Hue para tons mais amarelo-esverdeados no dia 0 pode estar relacionado à presença residual de pigmentos clorofilinos e flavonoides no extrato (Nobossé et al. 2018), que podem afetar a coloração da matriz cárnea por diluição dos pigmentos da carne (Mashau et al. 2021b).

4.4 Cor de hamburguer grelhado

O cozimento não reverteu o escurecimento induzido pelo EAMO; ao contrário, acentuou as diferenças na luminosidade (L^*) entre o controle e os tratamentos com extrato em todos os tempos avaliados. A degradação térmica de clorofilas e outros pigmentos lábeis presentes no EAMO, somada às reações de Maillard entre aminoácidos e açúcares redutores do extrato, contribui para maior escurecimento em concentrações mais elevadas durante o cozimento (Domínguez et al. 2019; Ahmed et al. 2022). Mashau et al. (2021b) reportaram padrão similar em patês de carne ovina grelhados com EAMO, com maior escurecimento após o processamento térmico nas maiores concentrações avaliadas.

A oscilação temporal na significância do efeito sobre a^* em hambúrgueres grelhados pode refletir efeitos concorrentes dos compostos fenólicos: proteção da mioglobina em determinados períodos de armazenamento versus promoção de sua oxidação a metamioglobina em outros, fenômeno dependente do estado de oxidação dos compostos fenólicos no momento do cozimento e da disponibilidade de oxigênio (Domínguez et al. 2019; Falowo et al. 2018; Ahmed et al. 2022). A forte redução da intensidade de amarelo (b^*) nos hambúrgueres grelhados com EAMO, com perda praticamente total da cromaticidade amarela em altas concentrações, confirma a degradação térmica dos pigmentos carotenoides e flavonoides do extrato, resultando em coloração predominantemente escuro-acastanhada que contrasta com a aparência esperada pelo consumidor. Falowo et al. (2018) e Ayirezang et al. (2023) reportaram resultados consistentes com esse padrão em hambúrgueres bovinos e carnes processadas com extratos de MO.

4.5 Características de grelhado

A redução do rendimento de grelhado e o aumento do encolhimento dimensional proporcional à concentração de EAMO indicam que as interações fenólico-proteína modificam as propriedades viscoelásticas da rede miofibrilar durante a desnaturação térmica, reduzindo a capacidade de retenção de água (Domínguez et al. 2022; Ahmed et al. 2022; Khomola et al. 2021). Khomola et al. (2021) reportaram menor rendimento em patês de carne ovina com farinha de folhas de MO, atribuindo o efeito ao reticulamento de proteínas miofibrilares mediado por

polifenóis, que restringe a capacidade da rede proteica de reter água durante o cozimento. Ahmed et al. (2022) e Fernandes et al. (2017) observaram resultados similares com outros extratos fenólicos em hambúrgueres bovinos e ovinos, respectivamente. A menor perda de rendimento no dia 90 em relação a dias anteriores pode refletir a redistribuição das interações fenólico-proteína durante o armazenamento prolongado, com menor impacto sobre a capacidade de retenção de água ao final do período estudado.

O efeito quadrático significativo sobre a força de cisalhamento no dia 0 (C3: $P=0,01$), com o tratamento EAMO4 apresentando maior valor, sugere que em concentrações intermediárias os compostos fenólicos promovem reticulamento das proteínas miofibrilares suficiente para aumentar a firmeza, enquanto em concentrações mais altas o excesso de interações pode resultar em agregação proteica que altera a organização estrutural, reduzindo a coesão da matriz. Comportamento não-linear similar de compostos fenólicos sobre a textura cárnea foi reportado por de Carvalho et al. (2019) e Vergara et al. (2021) em hambúrgueres ovinos com extratos naturais. A ausência de diferenças significativas na força de cisalhamento nos dias 30, 60 e 90 sugere que as modificações texturais induzidas pelo EAMO se atenuam durante o armazenamento congelado, possivelmente pela continuidade das interações fenólico-proteína que progressivamente estabilizam a rede proteica em todos os tratamentos.

4.6 Análise sensorial

A análise de componentes principais (PCA) evidenciou que os tratamentos com maiores concentrações de EAMO (EAMO4 e EAMO6) foram associados negativamente aos atributos hedônicos, enquanto o controle e o EAMO2 apresentaram maior aceitação. Esse resultado é coerente com os efeitos observados sobre cor (maior escurecimento), sabor (potencial adstringência dos taninos) e textura (maior encolhimento e força de cisalhamento alterada) nas concentrações mais altas (de Carvalho et al. 2019; Fernandes et al. 2017; Ahmed et al. 2022; Khomola et al. 2021). Estudos de análise sensorial com MO em produtos cárneos reportaram padrão similar: Mashau et al. (2021b) e Khomola et al. (2021) observaram que concentrações elevadas de extrato ou farinha de MO reduziram a

aceitação sensorial de patês de carne ovina, particularmente nos atributos de cor e sabor. Allhyani et al. (2024) e Dubeni et al. (2025) reportaram resultados convergentes em carnes processadas com MO. Esses achados coletivos indicam que o EAMO a 2% representa a concentração de maior viabilidade sensorial para incorporação em hambúrgueres de carne ovina, com impacto mínimo sobre os atributos avaliados em comparação às concentrações superiores.

5. Conclusão

A incorporação do EAMO em hambúrgueres de carne ovina modificou, de forma concentração-dependente, a composição centesimal, as características oxidativas, os atributos de cor, as propriedades de cozimento e a aceitação sensorial do produto ao longo de 90 dias de armazenamento congelado. O teor de minerais aumentou progressivamente com a concentração de EAMO, sem efeito sobre o teor de proteínas. O controle com ácido ascórbico (0,1%) apresentou maior capacidade sequestrante de radicais livres (ABTS e DPPH) do que todos os tratamentos com EAMO na maior parte do período avaliado, indicando que o EAMO nas concentrações estudadas não substituiu com eficiência equivalente o antioxidante sintético no sistema cárneo.

O comportamento dos TBARS foi bifásico: nas fases iniciais do armazenamento, o EAMO elevou a oxidação lipídica de forma proporcional à concentração; ao final dos 90 dias, o tratamento com EAMO a 2% apresentou os menores valores de TBARS entre todos os grupos, incluindo o controle, sugerindo potencial protetor tardio contra a oxidação lipídica. O pH foi reduzido linearmente com o incremento de EAMO em todos os tempos avaliados. A adição do extrato promoveu escurecimento progressivo dos hambúrgueres crus e grelhados, redução do rendimento de grelhado e aumento do encolhimento dimensional proporcionais à concentração. A análise sensorial confirmou que concentrações mais elevadas de EAMO comprometem a aceitação pelos consumidores.

Conclui-se que o EAMO a 2% representa a concentração de maior viabilidade para incorporação em hambúrgueres de carne ovina, com potencial protetor tardio contra a oxidação lipídica e menor impacto sobre cor, textura e aceitação sensorial. Estudos futuros devem investigar estratégias de

encapsulamento do EAMO para proteger os compostos bioativos nas fases iniciais do armazenamento, o sinergismo com antioxidantes naturais complementares para ampliar a eficácia no início do período de conservação, e a avaliação microbiológica e sensorial em condições de pré-preparo do produto para o consumidor final. Essas direções estão alinhadas com as tendências apontadas na literatura recente sobre o desenvolvimento de sistemas antioxidantes naturais para preservação de carnes (Mostafa et al., 2025).

6. Referências

- Abdallah, R.; Mostafa, N.Y.; Kirrella, G.A.K.; Gaballah, I.; Imre, K.; Morar, A.; Herman, V.; Sallam, K.I.; Elshebrawy, H.A. Antimicrobial Effect of *Moringa oleifera* Leaves Extract on Foodborne Pathogens in Ground Beef. *Foods* 2023, 12, 766. <https://doi.org/10.3390/foods12040766>
- Al-Baidhani, A. M. S., Hashim, A.Z., Al-Qutaifi, H.K., Al-Hilphy, A.R., Waseem, M., Madilo, F.K., Manzoor, M.F. Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from *Moringa oleifera* leaves for beef patties preservation: Antioxidant and inhibitory activities, half-life, and sensory attributes. *Food Science & Nutrition*, 2024, 1–14. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4395>
- Ahmed, I.A.M.; Babiker, E.E.; Al-Juhaimi, F.Y.; Bekhit, A.E.-D.A. Clove Polyphenolic Compounds Improve the Microbiological Status, Lipid Stability, and Sensory Attributes of Beef Burgers during Cold Storage. *Antioxidants* 2022, 11, 1354. <https://doi.org/10.3390/antiox11071354>
- Al-Juhaimi, F.; Ghafoor, K.; Hawashin, M.D.; Alsawmahi, O.N.; Babiker, E.E. Effects of different levels of *Moringa (Moringa oleifera)* seed flour on quality attributes of beef burgers. *CyTA - Journal of Food*, 2016, 14(1), 1–9. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1034784>
- Allhyani, A.A., Baeshen, M., Elsharawy, N.T. Influence of *Moringa oleifera* leaf extracts on the microbiological and physical properties of chevon meat. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 2024, 12(s1): 14-23. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2024/12.s1.14.23>
- Amaral, A.B., da Silva, M.V., Lannes, S.C.S. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review. *Food Science and Technology* 2018, 38(Suppl. 1): 1-15. <https://doi.org/10.1590/fst.32518>
- Anwar, F.; Latif, S.; Ashraf, M.; Gilani, A.H. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research*, 2007, 21(1), 17-25. <https://doi.org/10.1002/ptr.2023>

AOAC - Official Methods of Analysis. 2020. In Association of Official Analytical Chemists, 18th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Gaithersburg, MD, USA, 2020.

Ayirezang, F.A., Arhin, R.A., Whyte, B.K., Antwi, E.O., Boateng, B.N.A. Shelf-Life Feasibility Study of Moringa oleifera Seasoned Beef. *Journal of Food Quality*, 2023, 5346409. <https://doi.org/10.1155/2023/5346409>

Babiker, E.E.; Al-Juhaimi, F.Y.; Alqah, H.A.; Adisa, A.R.; Adiamo, O.Q.; Mohamed Ahmed, I.A.; Alsawmahi, O.N.; Ghafoor, K.; Ozcan, M.M. The effect of Acacia nilotica seed extract on the physicochemical, microbiological, oxidative stability and sensory properties of chicken patties. *Journal of Food Science and Technology (J. Food Sci. Technol.)*, 2019, 56, 3910–3920. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03862-y>

Brasil. 2000. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento (MAPA), Secretaria da Defesa Agropecuária (SDA) Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), Divisão de Normas Técnicas, Instrução Normativa n. 3 janeiro de 2000, [Approves the Technical Regulation on Stunting Methods for the Humane Slaughter of Butchery Animals]; Lex, Diário Oficial da União de 24 de janeiro de: Brasília, Brazil, 2000; Seção I, pp. 14–16.

Cózar, A., Rubio, N., Vergara, H. 2018. Ground spices to stabilise lamb burgers made of lower- or higher-value carcass cuts. *Animal Production Science*, 2018, 58, 2143–2151. <https://doi.org/10.1071/AN16355>

Das, A., Biswas, S., Nanda, P.K., Chatterjee, N., Pal, S., Dhar, P., Verma, A.K., Bhattacharya, D., Koshy, R., Das, A.K. *Moringa* pod derived antioxidant dietary fibre as a quality enhancer in goat meat nuggets. *Sustainable Food Technology*, 2024, 2, 232. <https://doi.org/10.1039/d3fb00177f>

Das, A.K.; Rajkumar, V.; Verma, A.K.; Swarup, D. *Moringa oleifera* leaves extract: a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in cooked goat meat patties. *International Journal of Food Science and Technology*, 2012, 47, 585–591. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02881.x>

Dawidowicz, A.L.; Olszowy, M.; Jóźwik-Doleba, M. Antagonistic Antioxidant Effect in Butylated Hydroxytoluene/Butylated Hydroxyanisole Mixture. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 549-3206. 2015. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12469>

de Carvalho, F.A.L.; Lorenzo, J.M.; Pateiro, M.; Bermúdez, R.; Purriños, L.; Trindade, M.A. Effect of guarana (*Paullinia cupana*) seed and pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaf extracts on lamb burgers with fat replacement by chia oil emulsion during shelf life storage at 2 °C. *Food Research International*, 2019, 125, 108554. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108554>

Deepali, D., Gulia, V., Dhull, S.S.; Beniwal, D.; Rani, J.; Abdi, G. Unveiling *Moringa oleifera*: potent source of antioxidant and antibacterial properties. *Discover Applied Sciences*, 2025, 7, 381. <https://doi.org/10.1007/s42452-025-06836-2>

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry (Food Chem.)* 2006, 97, 654-660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028>

Domínguez, R.; Pateiro, M.; Munekata, P.E.S.; Zhang, W.; Garcia-Oliveira, P.; Carpena, M.; Prieto, M.A.; Bohrer, B.; Lorenzo, J.M. Protein Oxidation in Muscle Foods: A Comprehensive Review. *Antioxidants*, 11, 60. 2022. <https://doi.org/10.3390/antiox11010060>

Domínguez, R.; Pateiro, M.; Gagaoua, M.; Barba, F.J.; Zhang, W.; Lorenzo, J.M. A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. *Antioxidants*, 8, 429. 2019. <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>

Dubeni, Z.B., Buwa-Komoreng, L.V., Mthi, S. The Potential Application of *Moringa oleifera* Extracts as Natural Preservatives of Chicken Meat. *Pharmacognosy Magazine*, 2025, 21(2), 561–572. <https://doi.org/10.1177/09731296241288922>

Elhadi, D.A.E.; Elgasim, E.A.; Ahmed, I.A.M. Microbial and oxidation characteristics of refrigerated chicken patty incorporated with moringa (*Moringa oleifera*) leaf powder, *CyTA - Journal of Food*, 2017, 15(2), 234-240. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1242157>

Esazadeh, K.; Dolatabadi, J.E.N.; Andishmand, H.; Mohammadzadeh-Aghdash, H.; Mahmoudpour, M.; Kermanshahi, M.N.; Roosta, Y. Cytotoxic and genotoxic effects of tert-butylhydroquinone, butylated hydroxyanisole and propyl gallate as synthetic food antioxidants. *Food Science & Nutrition*, 2024, 12(10), 6897-8499. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4373>

Ezz El-Din Ibrahim, M.; Alqurashi, R.M.; Alfaraj, F.Y. Antioxidant Activity of *Moringa oleifera* and Olive *Olea europaea* L. Leaf Powders and Extracts on Quality and Oxidation Stability of Chicken Burgers. *Antioxidants*, 2022, 11, 496. <https://doi.org/10.3390/antiox11030496>

Falowo, A.B.; Mukumbo, F.E.; Idamokoro, E.M.; Lorenzo, J.M.; Afolayan, A.J.; Muchenje, V. 2018. Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam. in nutrition and animal food products: A review. *Food Research International* 2018, 106, 317–334. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.079>

Falowo, A.B., Muchenje, V., Hugo, A., Aiyegoro, O.A., Fayemi, P.O. Antioxidant activities of *Moringa oleifera* L. and *Bidens pilosa* L. leaf extracts and their effects on oxidative stability of ground raw beef during refrigeration storage, *CyTA - Journal of Food*, 2017, 15:2, 249-256, <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1243587>

Falowo, A.B., Fayemi, P.O., Muchenje, V. Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International* 2014, 64, 171–181. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.022>

Fernandes, R.P.P.; Trindade, M.A.; Tonin, F.G.; Pugine, S.M.P.; Lima, C.G.; Lorenzo, J.M.; de Melo, M.P. Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract. *Food Chemistry* 2017, 233, 101–109. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.100>

Hadidi, M.; Orellana-Palacios, J.C.; Aghababaei, F.; Gonzalez-Serrano, D.J.; Moreno, A.; Lorenzo, J.M. Plant by-product antioxidants: Control of protein-lipid oxidation in meat and meat products. *LWT*, 2022, 169, 114003. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114003>

Hirata, A.S.O.; Fernandes, A.R.M.; Fuzikawa, I.H.S.; Vargas Junior, F.M.; Ricardo, H.A.; Cardoso, C.A.L.; Alves, L.G.C.; Zagonel, N.G.T. Meat quality of Pantaneiro lambs at different body weights. *Semina: Ciências Agrárias*, 2019, 40(1), 427–442. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n1p427>

Kartikasari, L.R., Barido, F.H., Hertanto, B.S., Nuhriawangsa, A.M.P., Swastike, W. Inclusion of *Moringa oleifera* Leaf Extracts and Varying Final Internal Temperatures to Influence the Antioxidant and Physicochemical Qualities of Low-Grade Beef Patties. *Processes*, 2024, 12, 2818. <https://doi.org/10.3390/pr12122818>

Khezerlou, A.; Akhlaghi, A.p.; Alizadeh, A.M.; Dehghan, P.; Maleki, P. Alarming impact of the excessive use of tert-butylhydroquinone in food products: A narrative review. *Toxicology Reports*, 2022, 9, 1066–1075. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.04.027>

Kholif, A.E., Gouda, G.A., Anele, U.Y., Galyean, M.L. 2018. Extract of *Moringa oleifera* leaves improves feed utilization of lactating Nubian goats. *Small Ruminant Research*, 2018, 158, 69–75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.10.014>

Khomola, G.T., Ramatsetse, K.E., Ramashia, S.E., Mashau, M.E. The incorporation of *Moringa oleifera* leaves powder in mutton patties: Influence on nutritional value, technological quality, and sensory acceptability. *Open Agriculture*, 2021, 6, 738–748. <https://doi.org/10.1515/opag-2021-0043>

Kumaran, A., Karunakaran, R.J. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry (Food Chem)*. 2006, 97, 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.032>

Kumar, Y.; Yadav, D.N.; Ahmad, T.; Narsaiah, K. Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2015, 14, 681–847. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12156>

Lorenzo, J.M.; Trindade, M.A.; Ahn, D.U.; Barba, F.J. Natural antioxidants to reduce the oxidation process of meat and meat products. *Food Research International*, 2019, 115, 377–378. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.015>

Lorenzo, J.M.; Pateiro, M.; Domínguez, R.; Barba, F.J.; Putnik, P.; Kovačević, D.B., Shpigelman, A.; Granato, D.; Franco, D. Berries extracts as natural antioxidants in

meat products: A review. *Food Research International*, 2018, 106, 1095-1104. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.005>

Macfie, H.J.; Bratchell, N.; Greenhoff, K.; Vallis, L.V. 1989. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 1989, 4(2), 129–148. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.1989.tb00463.x>

Martínez, L., Jongberg, S., Ros, G., Skibsted, L.H., Nieto, G. 2020. Plant derived ingredients rich in nitrates or phenolics for protection of pork against protein oxidation. *Food Research International*, 2020, 129, 108789. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108789>

Mashau, M.E.; Ramatsetse, K.E.; Ramashia, S.E. Effects of adding *Moringa oleifera* Leaves Powder on the Nutritional Properties, Lipid Oxidation and Microbial Growth in Ground Beef during Cold Storage. *Applied Sciences*, 2021a, 11, 2944. <https://doi.org/10.3390/app11072944>

Mashau, M.E.; Munandi, M.; Ramashia, S.E. Exploring the influence of *Moringa oleifera* leaves extract on the nutritional properties and shelf life of mutton patties during refrigerated storage. *CyTA - Journal of Food*, 2021b, 19(1), 389–398. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1910732>

Matos, F.J.A. 2009. Introdução a fitoquímica experimental. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150 p.

Miller, N.J.; Rice-Evans, C.A. Factors Influencing the Antioxidant Activity Determined by the ABTS•+ Radical Cation Assay. *Free radical research*, 1997, 26, 195-199. <https://doi.org/10.3109/10715769709097799>

Mostafa, S.; Tushar, Z.H.; Hashem, A.; Rahman, M. Role of natural antioxidants on active packaging of meat and meat products: A review. *Applied Food Research*, 2025, 5(2), 101437. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101437>

Muthukumar, M.; Naveena, B.M.; Vaithyanathan, S.; Sem, A.R.; Sureshkumar, K. Effect of incorporation of *Moringa oleifera* leaves extract on quality of ground pork patties. *Journal of Food Science and Technology (J Food Sci Technol)*, 51, 3172–3180. 2014. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0831-8>

Nobossé, P., Fombang, E.N., Mbofung, C.M.F. 2018. Effects of age and extraction solvent on phytochemical content and antioxidant activity of fresh *Moringa oleifera* L. leaves. *Food Science & Nutrition*, 6, 2188–2198. <https://doi.org/10.1002/fsn3.783>

Pansera, M.R., Santos, A.C.A., Wasum, R., Rossato, M., Rota, L.D., Pauletti, G.F., Serafini, L.D. 2003. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2003, 13(1), 17-23. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2003000100002>

Pires, M.A.; Munekata, P.E.S.; Villanueva, N.D.M.; Tonin, F.G.; Baldin, J.C; Rocha, Y.J.P.; Carvalho, L.T.; Rodrigues, I.; Trindade, M.A. The Antioxidant Capacity of

Rosemary and Green Tea Extracts to Replace the Carcinogenic Antioxidant (BHA) in Chicken Burgers. *Journal of Food Quality*, 2017, 2409527, 6. <https://doi.org/10.1155/2017/2409527>

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing (Versão 4.2.1; R Studio v. 2024.06.1). R Foundation for Statistical Computing. 2024. <https://www.R-project.org/>.

Vergara, H., Cózar, A., Rubio, N. Lamb meat burgers shelf life: effect of the addition of different forms of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.), *CyTA - Journal of Food*, 2021, 19:1, 606-613, <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1938238>

Wagner, H., Bladt, S. 2009. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. 2. ed. London: Springer, 2009. 384 p.

CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente tese investigou, de forma integrada, o uso de *Moringa oleifera* (MO) na produção de ovinos, desde o panorama científico global até as aplicações na nutrição animal e na tecnologia de produtos cárneos. Os três capítulos que a compõem oferecem contribuições complementares que, em conjunto, permitem uma visão abrangente das potencialidades e limitações dessa planta no contexto da produção ovina.

O Capítulo II, por meio da análise bibliométrica, revelou que a produção científica sobre MO em pequenos ruminantes é recente, concentrada geograficamente e ainda fragmentada metodologicamente. As lacunas identificadas, especialmente a escassez de estudos *in vivo* em ovinos, a falta de padronização dos protocolos de preparo e dosagem, e a carência de investigações de longa duração orientaram a definição dos objetivos experimentais dos capítulos subsequentes.

O Capítulo III demonstrou que o extrato aquoso de folhas de MO, nas doses avaliadas (25 a 100 mg/kg de concentrado), não comprometeu o consumo voluntário nem a digestibilidade dos nutrientes em ovinos Pantaneiros em condições de manutenção, confirmando seu perfil de segurança metabólica. No entanto, a hipótese de modulação seletiva da fermentação ruminal não foi confirmada, uma vez que os parâmetros de fermentação (pH, N-NH₃, perfil de AGCC) permaneceram inalterados. Esse resultado indica que as doses eficazes identificadas em estudos *in vitro* e em caprinos não são diretamente transponíveis para ovinos, evidenciando a necessidade de recalibração das doses em experimentos *in vivo* com essa espécie.

O Capítulo IV estendeu a investigação à cadeia produtiva, avaliando a incorporação do EAMO em hambúrgueres de carne ovina. Os resultados revelaram comportamento bifásico do extrato: nas fases iniciais do armazenamento, o EAMO elevou a oxidação lipídica de forma proporcional à concentração; ao final de 90 dias, o tratamento com EAMO a 2% apresentou os menores valores de TBARS, sugerindo proteção tardia contra a oxidação lipídica. Contudo, o escurecimento dose-dependente dos hambúrgueres crus e grelhados, aliado ao impacto negativo das concentrações mais altas sobre a aceitação sensorial, indica que a viabilidade tecnológica do EAMO em produtos cárneos depende do equilíbrio entre benefícios funcionais e qualidade percebida pelo consumidor.

Em síntese, a principal contribuição desta tese reside na abordagem sequencial que parte da análise do panorama científico, avança para a avaliação experimental dos efeitos do EAMO na nutrição animal, e culmina na aplicação tecnológica do extrato em um produto cárneo como o hamburguers. Os resultados indicam que o EAMO, embora seguro e com potencial antioxidante tardio, não substituiu o ácido ascórbico como antioxidante no sistema cárneo nas concentrações avaliadas, tampouco exerceu efeito modulador sobre a fermentação ruminal de ovinos em manutenção. Recomenda-se que estudos futuros investiguem concentrações mais elevadas do extrato em ovinos sob condições de produção, estratégias de encapsulamento para proteção dos compostos bioativos nas fases iniciais do armazenamento, e análises de viabilidade econômica do uso do EAMO como aditivo funcional na cadeia produtiva da carne ovina.