

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

APROVEITAMENTO DO RESÍDUO DE FILETAGEM DA  
TILÁPIA DO NILO PARA PRODUÇÃO DE FARINHAS COM  
POTENCIAL APLICAÇÃO NA ALIMENTAÇÃO HUMANA

Autora: Ana Paula Sartório Chambo  
Orientadora: Prof. Dr. Maria Luiza Rodrigues de Souza  
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Fevereiro-2018

APROVEITAMENTO DO RESÍDUO DE FILETAGEM DA  
TILÁPIA DO NILO PARA PRODUÇÃO DE FARINHAS COM  
POTENCIAL APLICAÇÃO NA ALIMENTAÇÃO HUMANA

Autora: Ana Paula Sartório Chambo  
Orientadora: Prof. Dr. Maria Luiza Rodrigues de Souza  
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

“Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal”.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Fevereiro-2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

Chambo, Ana Paula Sartório

C446a      Aproveitamento do resíduo de filetagem da tilápia do Nilo para a produção de farinha com potencial na alimentação humana/ Ana Paula Sartório Chambo. -- Maringá, 2018.

80 f. : il. , color., figs. , tabs.

Orientadora: Prof.a. Dr.a. Maria Luiza Rodrigues de Souza.

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2018.

1. Farinha de peixe. 2. Aquicultura. 3. Carcaça de peixe. 4. Estabilidade oxidativa. 5. Pescado. I. Souza, Maria Luiza de, orient. II. Vasconcelos, Ricardo Souza, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 22. ED.639.9  
JLM000188



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

APROVEITAMENTO DO RESÍDUO DE FILETAGEM  
DA TILÁPIA DO NILO PARA PRODUÇÃO DE  
FARINHAS COM POTENCIAL APLICAÇÃO NA  
ALIMENTAÇÃO HUMANA

Autora: Ana Paula Sartori Chambó  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Luiza Rodrigues de Souza

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 28 de fevereiro de 2018.

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Paula Toshimi  
Matumoto Pinto

Prof. Dr. Lauro Daniel Vargas  
Mendez

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Ana Paula del Vesco

Prof. Dr. Alex Augusto  
Gonçalves

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Luiza Rodrigues de Souza  
Orientadora

Se eu acredito em Deus? Que valor poderia ter minha resposta, afirmativa ou não?

O que importa é saber que Deus acredita em mim!

Mário Quintana

À minha Família,

À luz dos meus olhos, ao sol das minhas manhãs, a minha razão de viver, à minha filha  
Maria Clara S. Estevez, por trazer suavidade e paz aos meus dias, por fazer planos  
terem sentido...

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelos desafios e pelas conquistas;

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, seus professores e funcionários pelos conhecimentos, as oportunidades e o auxílio;

A minha orientadora, Prof. Dr.<sup>a</sup> Maria Luiza Rodrigues de Souza, acima de tudo pelo otimismo, e alegria na execução dos nossos trabalhos. Pela paciência, conhecimento e dedicação desprendida juntamente com meu coorientador, Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos;

Aos integrantes da banca de qualificação, por aceitarem o convite e contribuírem para o enriquecimento do presente trabalho;

A Prof. Dr.<sup>a</sup> Eliane Gasparino, pelo auxílio e pelos conselhos;

A minha família, em especial a minha filha Maria Clara Sartório Estevez, que é a luz dos meus dias e ao meu marido Rogério Lopes Estevez, pelo amor incondicional e apoio;

Aos colegas do grupo de pesquisa: Marcos A. Matiucci, Bruna A. Bronharo, Paola Casagrande, Rafaela Verdi, Melina Coradini, por toda contribuição, atenção e distração;

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

A empresa Smart-fish, pelo apoio a pesquisa e doação do material para pesquisa;

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a elaboração deste trabalho, minha imensa gratidão!

## BIOGRAFIA

ANA PAULA SARTÓRIO CHAMBO, filha de Terezinha Sartório e Paulo Sábio Chambo, nasceu em Cacoal-RO, em 01 de março de 1983.

Em fevereiro de 2003, iniciou no Curso de Graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá, no campus de Maringá-PR, cumprindo as exigências para obtenção do título de “Zootecnista” em dezembro de 2009, na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus de Marechal Candido Rondon- PR.

Em março de 2010, iniciou no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Nível Mestrado, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, concentrando seus estudos na área de Aquicultura e Produção de Organismos Aquáticos, submetendo-se aos exames finais de defesa de dissertação em junho de 2012.

Em 2014, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, em Nível de Doutorado, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos/Aproveitamento de Subprodutos. Submeteu-se ao Exame Geral de Qualificação 28 de agosto de 2017 e a defesa da Tese em 28 de fevereiro 2018.



## ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iv
I. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1. Produção de tilápia .....	3
2. Resíduos do beneficiamento da tilápia e seu aproveitamento pela indústria .	5
3. Farinha de peixe .....	6
4. Farinha de peixe para consumo humano/concentrado proteico de peixe .....	8
5. Vida de prateleira e estabilidade oxidativa da farinha de peixe e/ou concentrado proteico de peixe .....	11
6. Aplicação tecnológica da farinha de peixe e/ou concentrado proteico .....	13
II. OBJETIVOS GERAIS.....	21
<b>III. Produção de farinha a partir de resíduo de filetagem de tilápia do Nilo para aplicação na alimentação humana.....</b>	<b>22</b>
RESUMO.....	22
ABSTRACT.....	22
INTRODUÇÃO .....	23
MATERIAL e MÉTODOS.....	24
Obtenção das farinhas .....	24
Avaliação de rendimento .....	25
Análises microbiológicas das farinhas.....	25

Análises das propriedades químicas e físicas das farinhas .....	25
Análise estatística .....	27
RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	27
CONCLUSÕES .....	38
<b>IV. Caracterização e Vida de prateleira de farinhas de CMS de tilápia do Nilo estabilizadas com diferentes antioxidantes.....</b>	<b>43</b>
RESUMO.....	43
Introdução .....	44
Material e Métodos .....	45
<b>Elaboração da farinha de CMS .....</b>	<b>45</b>
<b>Delineamento e Análise estatística.....</b>	<b>45</b>
<b>Capacidade antioxidante .....</b>	<b>47</b>
<b>Análises microbiológicas das farinhas .....</b>	<b>48</b>
<b>Análises das propriedades químicas e físicas das farinhas .....</b>	<b>48</b>
<b>Vida de prateleira das Farinhas .....</b>	<b>46</b>
Resultados e discussão.....	50
Conclusão.....	62
Referências.....	62
<b>V. Roll enriched with Nile tilapia meal: sensory, nutritional, technological and microbiological characteristics .....</b>	<b>67</b>
Abstract.....	67
1. Introduction .....	68
2. Material and methods.....	69
3. Results and discussion .....	71
4. Conclusion .....	78
5. References.....	78

## LISTA DE TABELAS

### III. Produção de farinha a partir de resíduo de filetagem de tilápia do Nilo para aplicação na alimentação humana

Tabela 1- Rendimento das frações obtidas durante a elaboração das farinhas de CMS, farinha de carcaça e cabeça de tilápia do Nilo.....	28
Tabela 2- Análise da composição centesimal, valor calórico, minerais, potencial hidrogeniônico (pH) e atividade de água (Aw) das farinhas de cabeça, carcaça e CMS de tilápia do Nilo .....	29
Tabela 3- Perfil de ácidos graxos e aminoácidos das farinhas de cabeça, carcaça e CMS de tilápia do Nilo.....	33
Tabela 4- A colorimetria das farinhas de cabeça, carcaça e CMS de tilápia do Nilo.....	36
Tabela 5- Diâmetro geométrico médio (DGM) e perfil de distribuição de partículas finas (PF), médias (PM) e grossas (PG) das farinhas de cabeça, carcaça e CMS de tilápia do Nilo .....	37

### IV. Caracterização e Vida de prateleira de farinhas de CMS de tilápia do Nilo estabilizadas com diferentes antioxidantes

**Tabela 1.** Valores médios de composição centesimal, minerais (Ca, Fe e P) e perfil lipídico das farinhas CMS de tilápia estabilizadas com diferentes níveis de antioxidantes naturais (chá-verde e resveratrol), sem antioxidante (Controle -) e com BHT (Controle +). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão. ....

**Tabela 2.** Atividade de água (Aw) e pH das farinhas de CMS de tilápia estabilizadas com diferentes níveis de antioxidantes naturais (chá verde e resveratrol), sem antioxidante (Controle -) e com 200 ppm de BHT no momento 0 e 240 horas após o início do vida de prateleira em estufa. Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão. ....

**Tabela 3.** Dados comparativos, entre o tempo em dias a temperatura ambiente e em horas a 60°C, suficientes para a farinha estabilizada com BHT atingir um Índice de peróxido (IP) pré-determinado..... 61

#### **V. Roll enriched with Nile tilapia meal: sensory, nutritional, technological and microbiological characteristics**

Table 1. Proximate composition and caloric value of rolls with different levels of inclusion of Nile tilapia meal..... 72

Table 3. Fatty acid profile (%) of rolls with different levels of inclusion of Nile tilapia meal..... 74

Table 4. Analysis of texture, volume and pH of rolls with different levels of inclusion of Nile tilapia meal..... 75

Table 5. Colorimetry of of rolls with different levels of inclusion of Nile tilapia meal. 77

Table 6. Sensory profile, acceptability index, purchase intent of of rolls with different levels of inclusion of Nile tilapia meal ..... 77

## LISTA DE FIGURAS

### I. Introdução

**Figura 1.** Fluxograma de obtenção de resíduos do processamento de filetagem e produção da farinha de peixe (Adaptado de: Vidotti et al., 2011). ..... 7

### IV. Caracterização e Vida de prateleira de farinhas de CMS de tilápia do Nilo estabilizadas com diferentes antioxidantes

**Figura 1.** Índice de Peróxido nas farinhas de CMS de tilápia estabilizadas com diferentes níveis de antioxidantes naturais, chá verde (a) e resveratrol (b), sem antioxidante (Controle -) e com 200 ppm de BHT durante vida de prateleira. .... 54

**Figura 2.** TBARS em farinhas de CMS de tilápia estabilizadas com diferentes níveis de antioxidantes naturais, chá verde (a) e resveratrol (b), sem antioxidante (Controle -) e com de BHT durante vida de prateleira. .... 56

**Figura 3.** Perfil colorimétrico das farinhas de CMS de tilápia estabilizadas com diferentes antioxidantes naturais (chá verde e resveratrol), sem antioxidante (Controle -) e com 200 ppm de BHT no momento 0 e 240 horas após o início do vida de prateleira em estufa. 59

**Figura 4.** Correlação do tempo em dias a temperatura ambiente e em horas a 60°C para a obtenção dos valores do Índice de peróxido predito pelas farinhas de CMS. .... 61

### V. Roll enriched with Nile tilapia meal: sensory, nutritional, technological and microbiological characteristics

Fig. 1. Roll with (A) 0%, (B) 5%, (C) 10% and (D) 15% inclusion of Nile tilapia meal. .... 76

## RESUMO

A tilápia do Nilo é uma das espécies de peixe mais produzidas mundialmente, porém, seu processo de industrialização apresenta baixo rendimento gerando grande quantidade de resíduos que precisam ser melhor aproveitados. Objetivou-se promover o aproveitamento de resíduos do beneficiamento da tilápia do Nilo, para elaboração de farinhas, caracterizá-las do ponto de vista nutricional, de estabilidade oxidativa e microbiológica e sua aplicação em produtos destinados a alimentação humana, como o pão francês. Para tanto foram realizados três experimentos, no primeiro (Experimento I), foram elaboradas três farinhas com cabeça, carcaça e carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia do Nilo. Estas foram avaliadas em relação ao rendimento, qualidade microbiológica, química e física. No segundo experimento (Experimento II), foram elaboradas farinhas de CMS estabilizadas com BHT, chá-verde e resveratrol nas concentrações de 0,02, 0,06 e 0,1 % e sem antioxidante com o objetivo de caracterizar e avaliar a oxidação lipídica das farinhas, durante teste acelerado de vida-de-prateleira em estufa a 60°C. No terceiro experimento (Experimento III) foram elaboradas quatro formulações de pão francês com adição de níveis crescentes de farinha de carcaças de tilápia do Nilo (0, 5, 10 e 15%). Os pães foram avaliados quanto a sua composição química, qualidade tecnológica, perfil sensorial. Os resultados do Experimento I revelaram que as farinhas de cabeça e carcaça apresentaram rendimento superior às de CMS. Na composição centesimal foram verificados valores médios para proteína de 50,3%, 56,6% e 79,0%, lipídeos 4,6%, 7,2% e 13% e cinzas de 38,4%, 32,6% e 4,3%, respectivamente para as farinhas de cabeça, carcaça e CMS. Com predominância dos ácidos graxos oleico; o palmítico, e o linoleico e dos aminoácidos; ácido glutâmico, leucina, lisina e glicina. O componente de cromaticidade L\* variou de 77,19 a 55,32, a\* de 4,44 a 4,88 e b\* de 4,13 a 9,51. Houve variação de 366µm a 986µm no Diâmetro Granulométrico Médio (DGM) das partículas

das farinhas. No experimento II, foi possível observar que a composição centesimal da farinha de CMS não foi alterada durante a vida-de-prateleira ( $p > 0,05$ ) indicando valores de 8,51%, 74,84%, 12,61% e 4,04%, para a umidade, proteína, lipídios e minerais, respectivamente. A colorimetria das farinhas, não foi influenciada pelos tratamentos ou pelo tempo em estufa ( $p > 0,05$ ), obtendo médias para o componente  $L^*$  de 52,07,  $a^*$  de 4,67 e  $b^*$  de 8,89. O pH (7,2) e a atividade de água (0,375) diminuíram durante a vida-de-prateleira ( $p < 0,05$ ), chegando a valores de 7,2 e 0,309 em 240 horas. Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) para o índice de peróxido e para o TBARS, entre o tratamento controle e os antioxidantes testados em nenhuma das concentrações, durante o teste em estufa a  $60^{\circ}\text{C}$ , cujos valores mínimos e máximos obtidos foram de 10 e  $45 \text{ meq kg}^{-1}$  e 1,59 a  $2,95 \text{ mg MDA.kg}^{-1}$ . No experimento III, a adição dos níveis de 0, 5, 10 e 15% de farinha de carcaças de tilápia em pães, diminuíram linearmente os teores de umidade e carboidratos ( $P < 0,05$ ), e aumentou ( $p < 0,0001$ ) os teores de proteína (9,91 a 14,30%) e cinzas (1,74 a 4,65%). Os lipídeos e o valor calórico dos pães não foram afetados ( $P > 0,05$ ) pelos níveis de inclusão, porém 15% de farinha de tilápia do Nilo acarretou em maior quantidade de ácidos graxos poli-insaturados (4,63%), em relação ao pão sem inclusão (4,46%). Observou-se aumento linear ( $P < 0,0001$ ) na firmeza dos pães (3,65 a 13,17N), e diminuição linear ( $P < 0,001$ ) do volume e volume específico. Os atributos sensoriais apresentaram efeito linear negativo ( $P < 0,01$ ), com índice de aceitação variando de 85,24% (0% de inclusão) para 70,57% (15% de inclusão). Concluindo-se que a metodologia aplicada na elaboração das farinhas de cabeça, carcaça e CMS de tilápia do Nilo (Experimento I) foi eficiente em gerar um produto de qualidade, originando farinhas de elevado teor proteico e mineral. A farinha de CMS elaboradas no Experimento II, apresentou elevado valor nutricional e qualidade microbiológica para o consumo humano. Porém, este produto possui elevada instabilidade sendo o BHT mais eficiente em retardar a oxidação lipídica da farinha que os antioxidantes naturais testados. A utilização de farinha de carcaça de tilápia na elaboração de pão francês (Experimento III) influenciou aumentando o teor de proteína, matéria mineral, ácidos graxos poli-insaturados, além de diminuir os carboidratos. Porém, deixou os pães mais firmes e com menor volume, diminuindo o seu rendimento tecnológico e a aceitação sensorial. Devido a estes fatores indesejáveis, recomenda-se a utilização de até 10% de farinha de tilápia em pão francês, pois fornece incremento nutricional sem perdas significativas de qualidade sensorial.

**Palavras-chave:** Carcaça de peixe; Estabilidade oxidativa; Pescado

## ABSTRACT

Nile tilápia is one of the most commonly produced fish species in the world, but its industrialization process is low yielding large quantities of waste that need to be better exploited. The objective was to promote the use of residues from the processing of Nile tilápia for the preparation of flours, characterizing them from a nutritional, oxidative and microbiological stability point of view and promoting their application in products intended for human consumption, such as French bread. Three experiments were carried out. In the first experiment (Experiment I) three flours with head, carcass and mechanically separated meat (CMS) of Nile tilápia were elaborated. These were evaluated for yield, microbiological, chemical and physical quality. In the second experiment (Experiment II), CMS flours stabilized with BHT, tea-green and resveratrol at 0.02, 0.06 and 0.1% concentrations were prepared and without antioxidant in order to characterize and evaluate lipid oxidation of flours, during an accelerated shelf-life test at 60°C. In the third experiment (Experiment III) four formulations of French bread were elaborated with increasing levels of Nile tilápia carcass meal (0, 5, 10 and 15%). The loaves were evaluated for their chemical composition, technological quality and sensorial profile. The results of Experiment I revealed that head and carcass meal presented higher yields than CMS. In the centesimal composition, were found mean values for protein of 50.3%, 56.6% and 79.0%, lipids of 4.6%, 7.2% and 13% and ashes of 38.4%, 32.6% and 4.3%, respectively for head, carcass and CMS flours. Also the predominance of oleic fatty acids; palmitic, linoleic and amino acids; glutamic acid, leucine, lysine and glycine were observed. Chromaticity component L\* ranged from 77.19 to 55.32, a\* from 4.44 to 4.88 and b\* from 4.13 to 9.51. There was a variation of 366µm to 986µm in the Mean Particle Size Diameter (DGM) of the flour particles. In experiment II, it was possible to observe that the centesimal composition of the CMS flour did not change during the shelf-life (p>



0.05) indicating values of 8.51%, 74.84%, 12.61% and 4, 04%, for moisture, protein, lipids and minerals, respectively. Flour colorimetry was not influenced by treatments or time in the oven ( $p > 0.05$ ), obtaining averages for the  $L^*$  component of 52.07,  $a^*$  of 4.67 and  $b^*$  of 8.89. The pH (7.2) and the water activity (0.375) decreased during the shelf-life ( $p < 0.05$ ), reaching values of 7.2 and 0.309 in 240h. There was no difference ( $p > 0.05$ ) for the peroxide index and for the TBARS between the control treatment and the antioxidants tested at any of the concentrations during the 60°C oven test, whose minimum and maximum values were 10 and 45 meq.kg<sup>-1</sup> and 1.59 to 2.95 mg MDA.kg<sup>-1</sup>. In the experiment III, the addition of the levels of 0, 5, 10 and 15% of meal of tilápia carcasses in loaves, linearly decreased the moisture and carbohydrate content ( $P < 0.05$ ), and increased ( $P < 0.0001$ ) the protein contents (9.91 to 14.30%) and ashes (1.74 to 4.65%). The lipids and the caloric value of the loaves were not affected ( $P > 0.05$ ) by inclusion levels, however, 15% of Nile tilápia flour resulted in a higher amount of polyunsaturated fatty acids (4.63%) in relation to bread without inclusion (4.46%). It was observed a linear increase ( $P < 0.0001$ ) in the firmness of the loaves (3.65 to 13.17 N), and a linear decrease ( $P < 0.001$ ) of the volume and specific volume. The sensorial attributes presented a linear negative effect ( $P < 0.01$ ), with an acceptance index varying from 85.24% (0% inclusion) to 70.57% (15% inclusion). It was concluded that the methodology applied in the elaboration of Nile tilápia, head and carcass meal (Experiment I) was efficient in generating a quality product, producing high protein and mineral flours. The CMS flour elaborated in Experiment II, presented high nutritional value and microbiological quality for human consumption. However, this product has high instability and BHT is more efficient in retarding the lipid oxidation of flour than the natural antioxidants tested. The use of tilápia carcass meal in the elaboration of French bread (Experiment III) influenced the increase of protein content, mineral matter, polyunsaturated fatty acids, and decrease carbohydrates. However, it left the loaves firmer and smaller, reducing their technological yield and sensory acceptance. Due to these undesirable factors, it is recommended to use up to 10% of tilápia flour in French bread as it provides nutritional enhancement without significant loss of sensory quality.

**Key words:** Fish carcass; Oxidative stability; Fish

## I. INTRODUÇÃO GERAL

A crescente demanda por alimentos saudáveis tem alterado o perfil do consumidor que tem priorizado alimentos de alto valor biológico como o pescado. Com o potencial produtivo do Brasil e o aumento na procura deste alimento, acredita-se que até 2020 passará a produzir um montante de 2 milhões de toneladas de acordo com o Ministério da Pesca e Aquicultura (Brasil, 2016). O que, de certa forma, é excelente para o setor pesqueiro, contudo, com este aumento produtivo, alguns problemas em relação a cadeia de produção acabam sendo evidenciados, por exemplo, a quantidade de resíduos gerados será relativamente maior.

Os resíduos de pescado representam cerca de 2/3 do volume da matéria-prima da indústria. Este acréscimo desperta preocupação, pois, estes resíduos ainda são muito pouco administrados, apenas 68% são destinados a indústrias para a fabricação de farinha de pescado para alimentação animal e o restante possui destino variado, muitas vezes inadequados do ponto de vista ambiental e de reciclagem animal (Boscolo e Feiden, 2007).

Considerando que a tilápia é a espécie mais expressiva no mercado, representando 45% de todo pescado produzido no Brasil (FAO, 2016), durante o processo de filetagem, principal método de beneficiamento desta espécie, a quantidade de resíduos gerados pode chegar a 72% na produção de filés sem pele (Kubitza, 2006). Destes resíduos, cerca de 14% em relação ao peso vivo da tilápia são resíduos cárneos aderidos aos ossos, que poderiam ser aproveitados por meio de processos de separação mecânica. A cabeça que pode representar até 25% do peso corporal dependendo do tamanho e da espécie do peixe (Stevanato et al., 2008), bem como, a carcaça inteira, possuem potencial para produção de subprodutos.

Este potencial, está atrelado ao elevado valor nutritivo da matéria-prima que contém valores expressivos de ácidos graxos, das séries ômega-6 e ômega-3, minerais como o cálcio, fósforo e ferro, vitaminas, como a A, D, e do complexo B, em especial B12, e proteínas, tornando um produto de alto valor nutricional (Simões et al., 2004; Vila Nova et al., 2005). Sendo assim, é de grande importância desenvolver formas de aproveitamento de resíduos como cabeça, peles, carcaça (espinhaço com carne remanescente) para alimentação humana, e escamas vísceras e ossos provindos do processo de despolpar, para outras finalidades, melhorando a eficiência na tentativa de um aproveitamento integral do pescado, proporcionando, assim, maior sustentabilidade do setor e conseqüentemente oferecendo ao consumidor produtos alternativos de grande valor agregado.

A grande preocupação da indústria com o aproveitamento de resíduos de pescado para alimentação humana, é a qualidade do produto final, uma vez que o pescado é altamente perecível. Os fatores limitantes são a contaminação por microrganismos, a estabilidade oxidativa e conseqüentemente a diminuição da vida de prateleira deste produto. A oxidação lipídica, além de degradar ácidos graxos essenciais, diminui o valor nutricional do alimento, gerando compostos tóxicos que acabam por inviabilizar seu consumo (Nunes, 2001; Pessatti, 2001, Brasil, 2004). Para tanto, faz-se necessário, uma adaptação para melhor aproveitamento destes resíduos, desenvolvendo técnicas de aproveitamento, no intuito de manutenção de características essenciais para qualidade como, a preservação dos componentes nutricionais, estabilidade oxidativa e formas de aplicação pela indústria. Pois, desde que manipulados adequadamente durante o beneficiamento, estes resíduos apresentam grande potencial de aplicação pela indústria, podendo ser utilizados na fabricação de derivados e subprodutos do pescado, como a farinha de peixe ou concentrado proteico para consumo humano. Estas formas de utilização agregam valor para os resíduos e ainda reduzem a quantidade de resíduos descartados no meio ambiente.

De maneira geral, este coproduto da indústria de alimentos pode ser incluído na fabricação de diversos alimentos, com a finalidade principal de enriquecimento em proteína, minerais e ácidos graxos de boa qualidade. A utilização da farinha de peixe em produtos cotidianos, como pães, bolos, biscoitos, cookies, pizza, macarrão entre outros alimentos de baixo valor nutricional, além de melhorar seu potencial nutritivo, também promove indiretamente o aumento no consumo do pescado, sendo um produto inovador

em função de sua qualidade e propriedades organolépticas características do pescado. Dentro deste contexto, a inclusão de farinha de peixe em produtos de panificação se torna uma boa opção na difusão e aceitação deste produto.

Portanto, a elaboração de farinha, a partir de resíduos de beneficiamento de peixes, com qualidade nutricional e estabilidade microbiológica e oxidativa que permitam sua inclusão em produtos alimentícios comumente consumidos no dia a dia, pode ser uma fonte de alimento alternativo com potencial econômico e aplicação social, uma vez que, os resíduos gerados no processamento do pescado são resíduos geralmente pouco ou não aproveitáveis, no entanto de qualidade nutricional excelente.

## 1. Produção de tilápia

Existem mais de 70 espécies de tilápias, destas espécies apenas quatro se destacaram na aquicultura mundial: a tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*), a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), a tilápia azul ou tilápia áurea (*Oreochromis aureus*) e a tilápia de Zanzibar (*Oreochromis urolepis hornorum*). Dentre estas, a tilápia do Nilo tem maior representatividade na aquicultura brasileira. Trata-se de uma espécie africana, pertencente à família Ciclidae, gênero *Oreochromis* e espécie *Oreochromis niloticus* (Lund e Figueira, 1989); é uma espécie tropical de alta rusticidade que vem sendo adaptada e cultivada desde 2000 a.C. (Kubitza, 2006).

A tilápia do Nilo foi inicialmente introduzida no Brasil em 1971 na região Nordeste; porém o avanço no cultivo desta espécie só ocorreu a partir da década de 1990, quando houve maior incentivo para pesquisas. Em 2005, o surgimento do programa de melhoramento genético de tilápia por meio de convênio firmado entre a Universidade Estadual de Maringá com o World Fish Center na Malásia, resultou na importação de 30 famílias melhoradas de tilápia do Nilo da linhagem GIFT que ajudaram a difundir e melhorar o cultivo desta espécie no Brasil (Resende et al., 2010). O Estado do Paraná foi um dos pioneiros na produção comercial da tilápia. Atualmente ela é cultivada em todo território nacional, com destaque para as regiões Sul, Sudeste e Nordeste, onde tem grande importância socioeconômica (Resende et al., 2010).

Mundialmente, a tilápia é uma das três espécies de peixe mais cultivada e consumida (FAO, 2016), e o Brasil está entre os maiores produtores de tilápia do mundo, perdendo somente para a China, Egito, Indonésia, Filipinas e a Tailândia (FAO, 2016).

Em 2015 o Brasil produziu um volume de mais de 220 mil toneladas, e corresponde a 45,4% do total produzido nacionalmente. A produção nacional de tilápia está concentrada principalmente nos Estados do Paraná, o maior produtor, com 28,8%, São Paulo (13,2%), Ceará (12,7%) e Santa Catarina (11,4%) (Brasil, 2016).

Em 2015, a produção da tilápia aumentou 9,7% em relação a 2014. O município de Jaguaribara (CE), embora tenha apresentado queda em relação a 2014, continua na liderança do ranking da produção de tilápia, com 13.800 toneladas despescadas. Nova Aurora (PR), que em 2014 ocupava a 10ª posição, passou a ser o segundo município produtor de tilápia (9,07 mil toneladas). Assis Chateaubriand (PR) manteve a terceira posição, com a produção de 7.000 mil toneladas, seguido por Toledo (PR), com a despesa de 5.800 toneladas. Santa Fé do Sul (SP) e Orós (CE) tiveram redução de suas produções e passaram a ocupar a quinta e a sexta posição, respectivamente (Brasil, 2016).

O aumento da produção mundial e na demanda de mercado pela tilápia, está atrelada a características de produção como: elevada produtividade, precocidade, adaptabilidade em diversas condições ambientais, excelente conversão alimentar, pouca susceptibilidade a doenças parasitárias e elevada resistência a baixas concentrações de oxigênio (Resende et al., 2010, Fitzsimmons et al., 2011). Além de características sensoriais, como: carne branca de textura firme, sabor delicado e agradável, com baixo teor de gordura e ausência de espinhas em forma de “Y”. Estas qualidades atraem produtores e consumidores no mercado nacional e internacional (Kubitza, 2006, Boscolo e Feiden, 2007, Resende et al., 2010).

Os peixes, de maneira geral, podem ser comercializados *in natura* ou industrializados congelados, enlatados, salgados, semiconservas e outros produtos. No caso da tilápia, os principais produtos comercializados são os peixes inteiros congelados e, os filés, sendo este último, o principal produto, o preferido pelo consumidor e também com maior valor agregado (Boscolo e Feiden, 2007). Em algumas regiões o preço do filé de tilápia supera o valor de outras carnes (SEBRAE, 2015). Este é um dos fatores que limita o consumidor na hora da escolha do produto.

Embora a tilapicultura tenha crescido consideravelmente nos últimos anos, chegando ao montante de 3,2 milhões de toneladas segundo a produção aquícola mundial registrada em 2012 (FAO, 2014), alguns fatores na cadeia produtiva ainda precisam ser avaliados, um aspecto indesejável na produção da tilápia por exemplo, é o baixo rendimento de filé que é de apenas 35% a 40% do peso total do peixe (Fitzsimmons et

al., 2011), e acaba gerando valores de 60 a 70% de resíduos (Boscolo e Feiden, 2007; Vidal et al., 2011) de filetagem.

Em virtude do processo ser ainda pouco automatizado e as características de nutrição e manejo serem ainda pouco padronizadas, o rendimento final de filé depende de fatores, como, por exemplo da eficiência manual do operário ou, dos equipamentos de filetagem, da forma e do tamanho do peixe, assim como do peso das vísceras, pele e nadadeira (Boscolo e Feiden, 2007; Vidal et al., 2011; Fitzsimmons et al., 2011). Assim, a quantidade de resíduos, geradas pelo setor é elevada e a indústria deve dispor de alternativas para o gerenciamento dos resíduos, garantindo maior diversidade de produtos, crescimento sustentável e a responsabilidade socioambiental (Pessatti, 2001, Boscolo e Feiden, 2007; Feltes et al., 2010; Souza et al., 2017).

## 2. Resíduos do beneficiamento da tilápia e seu aproveitamento pela indústria

Considerando a expressiva parcela de mercado que a tilapicultura representa, chegando a valores de quase 50% do montante do pescado produzido em alguns lugares do mundo (FAO, 2016), sendo que, o principal produto obtido nesta cadeia é o filé de tilápia (Boscolo e Feiden, 2007), e este possui baixo rendimento (35 a 40%) (Fitzsimmons et al., 2011), é crucial para a sustentabilidade do setor que medidas sejam tomadas para gerenciar os 60 a 70% de resíduos (Boscolo e Feiden, 2007; Vidal et al., 2011, Chalamaiah et al., 2012), que serão gerados a partir dos 1,9 milhões de toneladas de tilápias que serão produzidas mundialmente até 2025, segundo as expectativas da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2016). Se 2/3 desta matéria-prima (1,9 milhões de ton) acabar como material residual (Boscolo e Feiden, 2007), haverá o equivalente a 1,2 milhões de toneladas de resíduo que a indústria precisará dar destino. Os resíduos da indústria de filetagem são constituídos de cabeça, carcaça e vísceras que juntos somam 54% do total, a pele 10%, escamas 1% e as aparas dorsais e ventrais e o corte em “v” do filé, em torno de 5% (Vidotti et al., 2011).

De acordo com Vidotti et al. (2011), os resíduos de pescado podem ser divididos em dois grupos, sendo um composto por materiais inadequados (vísceras, escamas, pele e esqueleto, incluindo a cabeça), destinados à produção animal/vegetal ou descartados (Farinhas, óleos, silagens e compostagens de peixes e/ou como fertilizantes), e o outro para uso na alimentação humana é o grupo que inclui materiais comestíveis que podem

ser submetidos a processos para a obtenção de matéria-prima destinada à elaboração de produtos de valor agregado (empanados, formatados, embutidos, entre outros).

De maneira geral, as empresas acabam negligenciando estes resíduos, dando a eles o destino mais fácil e menos oneroso, sem aplicar tecnologias de transformação que possam agregar valor a este produto e aproveitar seu potencial biológico inerente da matéria-prima. Por exemplo, segundo Rebouças et al. (2012) apenas 68% destes resíduos são encaminhados às indústrias de farinha de pescado para alimentação animal, o restante, 23% são encaminhados a destinos inadequados, os quais possuem impacto ambiental negativo.

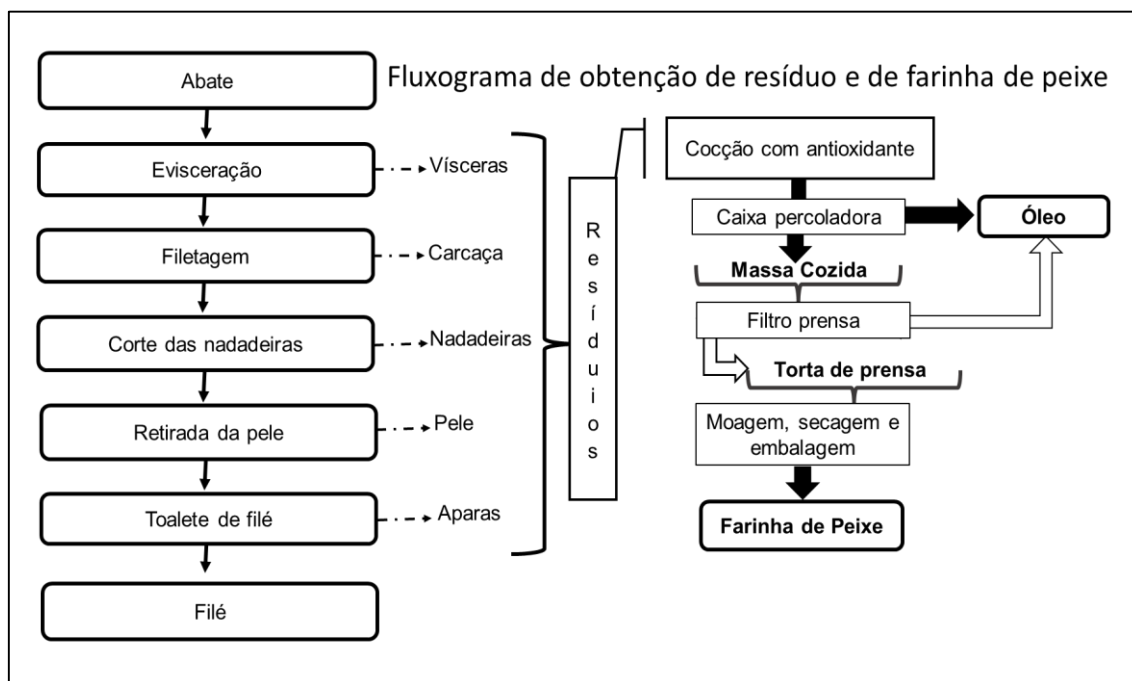
Historicamente, no Brasil, a alternativa viável de tratamento de resíduos aplicada mais frequentemente na indústria pesqueira é a produção de farinha de peixe destinada a alimentação animal, utilizada como principal fonte proteica em rações (Boscolo e Feiden, 2007; Vidotti 2011, FAO, 2014). Todavia, no Brasil, em torno de 50% de resíduos ainda são descartados durante o processamento de conservas ou em outras linhas de produção, como a filetagem, sendo considerado pequeno o aproveitamento de resíduos provenientes do beneficiamento de pescado (Rebouças et al., 2012).

Contudo, a produção de farinha para alimentação animal e o descarte destes resíduos não são as únicas alternativas disponíveis para a indústria, Feltes et al. (2010) revisaram as alternativas de agregar valor aos resíduos do pescado, relatando diversas alternativas sustentáveis. Dentre eles estão a elaboração de produtos de alto valor agregado com finalidade de aplicação na alimentação humana como: concentrado proteico de peixe (Passetti, 2001; Vidal et al., 2011), carne mecanicamente separada (Oliveira et al., 2015; Costa et al., 2016), produtos reestruturados como a salsicha (Oliveira Filho et al., 2010), o fishburger (Marengoni et al., 2009), o patê (Minozzo et al., 2008). Além de outros produtos como a silagem (Junior e Sales, 2013), o adubo orgânico (Sanes et al., 2015), que podem ser utilizados na agricultura, o óleo ou Biodiesel (Feltes et al., 2010) e a produção de artefatos de couro (Godoy et al., 2010).

### 3. Farinha de peixe

Como citado anteriormente, a farinha de pescado para alimentação animal é a principal forma de aproveitamento de resíduos pela indústria pesqueira. Este subproduto é obtido pela cocção do pescado e/ou de seus resíduos. O pescado cozido é prensado,

dessecado e triturado. O óleo de peixe também é produzido durante este processo, por meio de decantação ou centrifugação e filtração (Vidotti et al., 2011), de acordo com o fluxograma exemplificado na figura 1. A farinha é obtida a partir de peixes inteiros, restos de peixes ou resíduos provenientes do beneficiamento do pescado (FAO, 2014).



**Figura 1.** Fluxograma de obtenção de resíduos do processamento de filetagem e produção da farinha de peixe (Adaptado de: Vidotti et al., 2011).

O processamento da farinha a partir de resíduos consiste na eliminação da água e concentração dos nutrientes na matéria seca, este processo, diminui o volume inicial, gerando um rendimento de aproximadamente 20%, ou seja, para cada tonelada de resíduos são produzidas 200 Kg de farinha (Pessatti, 2001; FAO, 2016).

O principal motivo da aplicação prioritária destes tipos de resíduos para a elaboração de farinha está em sua composição química. Os resíduos de pescado mantêm o alto teor proteico encontrado nos peixes, composição balanceada em aminoácidos, particularmente aqueles limitantes em proteínas de origem animal, como a metionina e a cisteína, ácidos graxos da série ômega-3, minerais e vitaminas, tornando um produto de alto valor nutricional (Pessatti, 2001; Simões et al., 2004; Vila Nova et al., 2005; Boscolo e Feiden, 2007).

No entanto, apesar de ser amplamente produzida a partir de resíduos de peixe, a farinha obtida pelo método tradicional geralmente apresenta baixa qualidade, diferindo nutricionalmente a cada beneficiamento, com altos teores de cinza, rancidez de lipídios e degradação de proteínas (Teixeira et al., 2006). O retorno econômico deste produto para



a indústria é relativamente baixo, considerando os investimentos para a produção e o alto consumo energético. Bem como, a ausência de matéria-prima em algumas épocas do ano para algumas regiões. Devido a essas desvantagens, e visando a sustentabilidade do setor, existe um interesse constante por novas tecnologias economicamente mais vantajosas. Dentre elas, as aplicadas no desenvolvimento de produtos destinados para consumo humano, como demonstrado por alguns autores (Pessatti, 2001, Vidotti et al., 2011).

#### 4. Farinha de peixe para consumo humano/concentrado proteico de peixe

A farinha de peixe já é consumida há muitos anos em algumas regiões do Brasil, o “piracuí”, ou farinha de peixe do Amazonas, é um alimento de origem indígena amplamente comercializados, em feiras livres e supermercados da região amazônica (Nunes et al., 2013).

Na década de 1960 e 1970 a utilização da farinha de peixe tipo “piracuí”, foi produzida de forma semi-industrial e avaliada na suplementação de roscas e doces pelo Instituto de Pesquisa da Marinha Brasileira no Rio de Janeiro (Nunes et al., 2013). No mundo, há relatos de suplementação com este tipo de produto nas Filipinas, produção de pão no Egito, farinha de trigo enriquecida com concentrado proteico de peixe e algas no Cairo, biscoito extrusado em Bangkok e macarrão instantâneo na Malásia (Castro, 2003).

A produção de farinhas artesanais como o piracuí serve como referência histórica da introdução da farinha de peixe na alimentação humana, mas, as técnicas utilizadas não se aplicam a indústria moderna sendo necessárias à utilização de tecnologias que padronizem este produto garantindo sua qualidade. Relatos sobre o “piracuí”, deixam claro que muitas vezes o produto final obtido não atinge os padrões de sanidade compatíveis para consumo humano, apresentando o excesso de umidade, alta contaminação microbiológica, elevado índice de rancidez e a presença de material indesejável como resíduos não comestíveis (Castro, 2003; Nunes et al., 2013).

A qualidade higiênico-sanitária é justamente uma das principais preocupações em relação ao reaproveitamento de resíduos para fabricação de subprodutos para alimentação humana pois, pelo excesso de manipulação e a falta de cuidados na conservação, este material pode apresentar alto nível de contaminação, podendo inviabilizar seu consumo. Sendo a baixa higiene das operações e da matéria-prima, fatores que podem levar a

ocorrência de perigos de natureza física e biológica, em pontos críticos que depreciam a qualidade de produto final (Brasil, 2004).

No entanto, a viabilidade do aproveitamento dos resíduos do peixe para à produção de alimentos para o consumo humano depende, fundamentalmente, da qualidade da matéria-prima, tendo em vista, que a perecibilidade do tecido dos peixes é maior que a de outras espécies animais; além disso, a qualidade está diretamente relacionada aos cuidados na manipulação e conservação do peixe a baixas temperaturas, em toda a cadeia produtiva e com a aplicação de procedimentos adequados de limpeza e sanitização da planta processadora (Nunes, 2001; Pessatti, 2001, Brasil, 2004).

Outra questão sobre a produção da farinha de peixe para consumo humano é a falta de especificação e padronização deste produto pela legislação brasileira, o Artigo n. 471 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), classifica a farinha de peixe como sendo um subproduto não comestível (Brasil, 1952, Nunes et al., 2013). Sendo assim, segundo as normas e especificações da FAO, este produto possui características que o classificam, para finalidades comerciais, como “Concentrado Proteico de Pescado” (FAO, 1975). Embora, farinha de peixe e concentrado proteico de peixe tenham as mesmas características e a mesma origem, diferindo apenas nos processos de fabricação e destino final.

Os primeiros trabalhos com a aplicação da farinha de peixe para consumo humano e/ou com a elaboração de concentrado proteico de pescado começaram na década de 1970, porém por falta de estrutura da cadeia produtiva e tecnologias que impedissem a desnaturação e perda da funcionalidade das proteínas estes trabalhos foram descontinuados (Hall e Ahmad, 1992), voltando a ser discutido no meio científico efetivamente na década de 1990 com trabalhos como o de Shahidi et al. (1995) sobre hidrolisado proteico de peixe, o de Venugopal e Shahidi (1995) com a revisão dos métodos e processos para utilização de pescado de baixo custo, as produções literárias de Nunes e Ogawa (1999) sobre o concentrado proteico, Passetti, (2001) com aproveitamento dos subprodutos do pescado, entre outros inúmeros autores.

Inicialmente a utilização da farinha de peixe foi sugerida para suplementação de nutrientes para população de baixa renda e em produtos da merenda escolar (Passetti, 2001; Rocha et al., 2011; Vidal et al., 2011). Atualmente, a farinha de peixe e/ou concentrado proteico de peixe ainda é pouco conhecido e pouco utilizado, mas, vem sendo aos poucos descoberta pelos nutricionistas e seguidores de alimentação saudável, e já

pode ser considerada um ótimo alimento funcional (Hall e Ahmad, 1992; Brasil, 2005), podendo fazer parte das dietas para perda de peso e ganho de massa muscular. Pois, indiscutivelmente, apresentam proteínas de alta qualidade e digestibilidade (Nunes e Ogawa, 1999, Pessatti, 2001), com presença de aminoácidos essenciais e pelo balanceamento apropriado existente (Boscolo e Feiden, 2007; Vignesh e Srinivasan, 2012). Destaca-se também a presença de lipídios (entre 4 e 8%), de sais minerais (entre 12 e 33%) e de umidade que varia de 6 a 10% (Pessatti, 2001; Simões et al., 2004; Vila Nova et al., 2005; Vignesh e Srinivasan, 2012).

Em relação a viabilidade econômica da produção do concentrado proteico, não existem relatos consistentes na literatura, no entanto, considerando os mesmos custos de produção obtidos na fabricação da farinha de peixe para alimentação animal, uma vez que a planta de execução e o processo de fabricação são similares, bem como o custo energético, porém, com produto final de maior valor agregado. A farinha de peixe para consumo humano/concentrado proteico de pescado tem valores oscilando entre R\$ 40,00 e R\$ 80,00 o quilo no mercado livre, enquanto a farinha para consumo animal atingiu preços recordes de R\$ 7,50 por quilo no mercado europeu em 2014 (FAO, 2014). O que corresponde a incremento de aproximadamente 5 e 10 vezes no valor do produto.

A grande vantagem da elaboração do concentrado proteico de peixe é que este produto é muito versátil podendo ser utilizado como base em diferentes formulações, doces ou salgadas, de forma a agregar valor ao produto final (Stevanato et al., 2008; Petenucci et al., 2010; Vidal et al., 2011; Oliveira et al., 2015; Costa et al., 2016), como: pães (Centenaro et al., 2007; Adeleke e Odedeji, 2010; Shankar et al., 2010), macarrão (Goes et al., 2016b), lasanha (Kimura et al., 2017), biscoitos (Coradini et al., 2015) e bolos (Goes et al., 2016a).

Durante a produção e o armazenamento da farinha de peixe, dois pontos críticos devem ser acompanhados de perto, além da contaminação microbiológica, inerente a manipulação dos resíduos e nos processos, a rancidez oxidativa também é um problema nesta cadeia pelas características da matéria-prima, e podem diminuir o tempo de vida de prateleira do produto, podem causar efeitos indesejáveis ao alimento e, conseqüentemente à saúde (Stevanato, 2008).

## 5. Vida de prateleira e estabilidade oxidativa da farinha de peixe e/ou concentrado proteico de peixe

A estabilidade ou vida de prateleira de um alimento é definida como o período de tempo em que o mesmo pode ser conservado sob determinadas condições de temperatura, umidade, luz, etc., sofrendo pequenas alterações, que são consideradas aceitáveis pelo fabricante, pelo consumidor e pela legislação alimentar vigente (Neto et al, 1991). A degradação dos lipídios é um fator limitante da vida de prateleira e a rancidez constitui uma das mais importantes mudanças que ocorrem no alimento durante o armazenamento e processamento (Gatta et al., 2000).

A rancidez ou oxidação lipídica é um processo químico inevitável que afeta diretamente tanto a matéria-prima quanto o produto final. Seu desenvolvimento leva à formação de *off-flavors* (Neto et al, 1991, Gatta et al., 2000) e produtos tóxicos, além da degeneração de ácidos graxos essenciais e vitaminas (Choe e Min, 2006; Medina-Meza et al., 2014). Os ácidos graxos livres podem ser formados durante o processamento e armazenamento, pela ação de enzimas hidrolíticas presentes no peixe, aquecimento, hidrólise espontânea, alterações de pH e desta forma ser liberados (Medina-Meza et al., 2014).

Os peixes de maneira geral, assim como, seus derivados são ricos em ácidos graxos insaturados e poli-insaturados, possuem baixo teor de tocoferol, e pode ser entendido como uma matriz de difícil conservação mesmo sob refrigeração (Feltes et al., 2010; Petenucci et al., 2010), fazendo com que este tipo de alimento seja muito susceptível à oxidação. A reação ocorre por um mecanismo de formação de radicais livres e se caracteriza por um período de indução, em presença de oxigênio, com formação de peróxidos, formando na sequência hidroperóxidos que, ao degradar produzem os compostos secundários, que conferem alteração das características sensoriais. As reações de oxidação são catalisadas por agentes como a luz (fotooxidação) e a presença de enzimas no meio (oxidação enzimática) (Choe e Min, 2006; Ramalho e Jorge, 2006;).

Os principais efeitos da oxidação sob a vida de prateleira dos alimentos é que promove diminuição do valor nutritivo dos alimentos, degradando a fração lipídica, destruindo as vitaminas e diminuindo o valor biológico das proteínas, além de promover alterações na qualidade sensorial (sabor, textura, aroma) (Choe e Min, 2006).

Contudo, a oxidação lipídica pode ser inibida pela inativação enzimática, eliminação de água, uso de baixas temperaturas, entre outros. Bons resultados na

conservação da fração lipídica podem ser encontrados quando se adicionam, antioxidantes, como butilato de hidroxitolueno (BHT) e terc-butilhidroquinona (TBHQ) (Feltos et al., 2010). No entanto, na atualidade existe muita preocupação com a possível toxicidade e/ou mutagenicidade de antioxidantes artificiais como estes, e seu uso tem sido substituído por substâncias naturais, com potencial antioxidante como o extrato de chá verde e os tocoferóis (Ramalho e Jorge, 2006; Feltos et al., 2010).

Os principais antioxidantes utilizados na alimentação humana, são de maneira geral, os sintéticos BHA, BHT, PG e TBHQ, e os naturais como: os tocoferóis e os ácidos fenólicos obtidos de extratos de plantas como chá-verde, alecrim, sálvia, uva, romã, etc. Ambos são eficientes em inibir a oxidação lipídica dos alimentos, prevenindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados. A legislação brasileira permite a adição intencional de 300 mg/kg de tocoferóis, e de até 200 mg/kg para BHA e TBHQ e 100 mg/g para BHT (Ramalho e Jorge, 2006).

O fato é que mesmo fazendo uso de antioxidantes, as reações de oxidação podem apenas serem retardadas e não contidas permanentemente, pois, os alimentos são compostos bioativos formados por moléculas reativas que estão em constante interação. Sendo assim, para avaliar a vida de prateleira de um produto, e considerando a oxidação lipídica um dos fatores limitantes para o consumo de um determinado alimento, existem maneiras de se quantificar a oxidação e avaliar a eficiência dos antioxidantes.

Os métodos de oxidação acelerada são os mais utilizados, neste método, o material estabilizado com antioxidante é submetido a uma fonte de calor, luz ou pressão, por um determinado período. Durante o teste, amostras vão sendo retiradas com o objetivo de serem analisadas por métodos, como o Índice de Peróxido (IP), Índice de Acidez (IA), Dienos Conjugados, Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), entre outros (Antolovich et al., 2002; Osawa et al., 2005).

O índice de peróxido é um dos métodos mais utilizados para determinar a oxidação lipídica, pois estes são os primeiros compostos a se formarem no processo de oxidação. Seguidos dos hidroperóxidos, essencialmente inodoros, contudo, estes se decompõem em grande variedade de compostos secundários, voláteis e não voláteis. Dentre estes, os aldeídos são os que mais contribuem para a perda da qualidade dos produtos (Antolovich et al., 2002).

Entretanto, para avaliar efetivamente a rancidez oxidativa, um dos procedimentos analíticos mais utilizados é o TBARS, análise utilizada para quantificar, dentre outras

substâncias, o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, formado durante o processo de rancidez oxidativa. Para pescado e produtos à base de peixe, esta análise é uma das mais adequadas na avaliação do ranço, apesar da reação não ser específica e estar sujeita à ação de interferentes (Osawa et al., 2005; Petenucci et al., 2010).

Alimentos contendo o aldeído malônico e outros produtos da oxidação lipídica frequentemente são relacionados ao aparecimento de doenças como o câncer e, por isso, têm recebido a atenção da comunidade científica. Segundo Torres e Okani (1997), valores de TBARS acima de 1,59mg de aldeído malônico/kg de amostra são prejudiciais à saúde. Assim como a ingestão de produtos contendo hidroperóxidos que podem causar irritação na mucosa intestinal, diarreias, degeneração hepática e de órgãos linfoides e até morte celular (Osawa et al., 2005).

Os dados literários sobre farinha de pescado ou concentrado proteico de peixe utilizados na alimentação humana, na maioria das vezes tem enfoque na composição centesimal e possíveis aplicações, não fornecendo informações sobre estabilidade oxidativa e vida de prateleira deste produto.

## 6. Aplicação tecnológica da farinha de peixe e/ou concentrado proteico

De maneira geral, este coproduto da indústria de alimentos pode ser incluído na fabricação de diversos alimentos como: doces, salgados e massas, com a finalidade principal de enriquecimento em proteína, minerais e ácidos graxos de boa qualidade (Stevanato et al., 2008; Petenucci et al., 2010; Goes et al., 2016a; Goes et al., 2016b; Kimura et al., 2017).

Stevanato et al. (2008) por exemplo, analisaram a composição de ácidos graxos e o potencial nutritivo da farinha de cabeças de tilápias, que normalmente são descartadas durante a operação de filetagem, estes autores concluíram que a farinha de cabeça de tilápia, tem níveis elevados de proteína (38,41%), lipídios totais (35,46%), cinzas (minerais) (19,38%) e teor de ômega-3 (731 mg.100 g<sup>-1</sup>) satisfatório. Estes autores, ressaltam que as cabeças de tilápia podem ser usadas como matéria-prima de baixo custo para elaboração de alimentos aptos para consumo humano. A composição centesimal, o perfil de ácidos graxos e de aminoácidos de farinhas de cabeça e ossos de tilápia também foram testadas por Vignesh e Srinivasan, (2012), obtendo valores similares aos

encontrados pelos autores supracitados. Estes autores atestam a viabilidade da utilização das cabeças de tilápia para elaboração de produtos para alimentação humana.

Estudos sobre a composição e estabilidade lipídica da farinha de espinhaço de tilápia foram realizados por Petenucci et al. (2010). Durante este estudo, a farinha ficou armazenada sob refrigeração por um período de 90 dias, sendo sua qualidade monitorada por meio da composição em ácidos graxos, índice de acidez e análises microbiológicas. Estes autores relataram valores de proteína, resíduo mineral fixo e de lipídios totais de 40,8%, 18,3%, 25,3%, respectivamente. Nos lipídios totais, foram identificados um total de 24 ácidos graxos, com predominância dos ácidos graxos (porcentagem média) de 27,4% (ácido palmítico, 16:0), 35,15% (ácido oleico, 18:1n-9) e 11,82% (ácido linoleico, 18:2n-6) e, em menor proporção: 0,88% (ácido alfa-linolênico, 18:3n-3), 0,08% (ácido eicosapentaenoico, 20:5n-3) e 0,59 (ácido docosahexaenoico, 22:6n-3). O Índice de acidez das farinhas só sofreu alteração a partir de 60 dias de armazenamento.

Vidal et al. (2011) avaliaram o aproveitamento da carne mecanicamente separada (CMS) de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757) na obtenção de um concentrado proteico de tilápia (CPT) para o consumo humano. Resultando em rendimento de 18,34% de CPT, apresentando baixos níveis de umidade e cinza e alto conteúdo proteico e lipídico. Sensorialmente o CPT teve frequência de aceitação dos provadores foi de 60,4% para a cor, 51,1% para o aspecto geral e 41,7% para o aroma. Um produto similar foi avaliado por Rebouças et al. (2012b), estes autores também obtiveram altos valores de proteína e lipídeos (85,16%, 8,20%) e baixo teor de cinzas (1,02 e 2,45%), bem como, 60,0% de frequência de aceitação.

No estudo realizado por Costa et al. (2016) com a utilização de carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia para elaboração de farinha com alto valor nutricional, as farinhas de CMS de tilápia, revelou alto conteúdo de ácidos graxos ômega 3 e dos minerais magnésio, potássio, fósforo, ferro e cálcio na farinha.

A utilização da farinha de peixe em produtos cotidianos, de baixo valor nutricional, além de melhorar seu potencial nutritivo, também promove indiretamente o aumento no consumo do pescado e desenvolve maior aceitabilidade deste. Dentro deste contexto a inclusão de farinha de peixe em produtos da panificação seja uma boa opção na difusão e aceitação deste produto.

Shankar et al. (2010) avaliaram a inclusão de 5 a 20% de farinha de tilápia em pães, Adeleke and Odedeji (2010) a inclusão de 0, 5, 10, 15 e 20% de concentrado

proteico de tilápia em pão e assim como Centenaro et al (2007), estes autores verificaram que à medida que se aumentava a concentração da farinha de peixe na formulação de pães, havia uma tendência de rejeição por parte dos provadores, devido às alterações no sabor. Mas, foram admitidos valores de até 20% de inclusão com aceitabilidade satisfatórios e incremento no valor nutricional.

Goes et al., (2016a), avaliaram a inclusão de farinha de salmão e tilápia em bolo de espinafre e reforçam o enriquecimento progressivo de nutriente, por exemplo, a inclusão de até 15% de mix desidratado de salmão e tilápia no bolo de espinafre é capaz de aumentar o teor de proteína bruta e matéria mineral, além de diminuir o teor de carboidratos e o valor calórico, tendo melhor aceitação sensorial do produto com a inclusão máxima de 10%.

Ao avaliar palitos de cebola com a inclusão de diferentes níveis de farinha aromatizada elaboradas a partir de carcaças de tilápia do Nilo, Coradini et al. (2015) também constataram incremento de proteína e cinzas nos biscoitos com inclusão da farinha. Concluindo, valores aceitáveis sensorialmente de inclusão de até 30% da farinha aromatizada nos palitos de cebola, com acréscimo no teor de proteína, minerais e redução nos carboidratos e valor calórico.

Rebouças et al. (2012a) desenvolveram duas formulações de biscoitos salgados, com e sem adição de concentrado proteico de peixe (CPP), obtendo um produto com baixa aceitação, mas, a utilização deste subproduto na formulação dos biscoitos mostrou ser uma alternativa viável, para o seu enriquecimento nutricional. Em nova pesquisa Rebouças et al. (2012c) desenvolveram três formulações de biscoito doce tipo "cookie", um padrão, e outras com a adição de 51% e 83% de CPP. Os "cookies" padrão e adicionados de 51% de concentrado proteico tiveram aceitação entre 50 e 63%, não diferindo significativamente em nenhum atributo sensorial analisado.

Goes et al. (2016b) e Kimura et al. (2017) também testaram a inclusão de concentrado proteico de tilápia e farinha mista de tilápia e atum em macarrão e lasanha, respectivamente, obtendo resultados de aceitação superiores a 60%, e incrementando o valor nutricional destes alimentos.

#### Referências Bibliográficas

Adeleke, R. O., Odedeji, J. O., 2010. Acceptability studies on bread fortified with Tilápia fish flour. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9, 531-534.



Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K., 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127, 183-198.

Boscolo, W.R., Feiden, A., 2007. *Industrialização de tilápias*. GFM Gráfica & Editora, Toledo.

Brasil, 1952. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Decreto nº 3.691 de 29 de março de 1952. Aprova o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF.

Brasil, 2004. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº. 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas práticas para serviços de alimentação. Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2004.

Brasil, 2016. Ministério da Pesca e Aquicultura. Plano de desenvolvimento da aquicultura 2015-2020. Brasília: MPA.61p.

Castro, F. C. P. 2003. Concentrado protéico de peixe como suplemento alimentar nas forças armadas: emprego, produção e estabilidade de concentrado protéico de “piracuí” na ração operacional de combate de selva. *In*. I Workshop Brasileiro em Aproveitamento de Subprodutos de Pescado. Anais... Itajaí – SC.

Centenaro, G. S., Feddern, V., Bonow, E. T., Salas-Mellado, M., 2007. Enriquecimento de pão com proteínas de pescado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, 27, 663-668.

Chalamaiah, M., Narsing, R.G., Rao, D.G., Jyothirmayi, T., 2010. Protein Hydrolysates from *Meriga (Cirrhinus mrigala)* Egg and Evaluation of Their Functional Properties. *Food Chemistry*, 120, 652–657.

Choe, E., Min, D.B., 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive reviews in food Science and food safety*, 5, 169-186.

Coradini, M.F., Souza, M.L.R., Verdi, R., Goes, E.S.R., Kimura, K.S., Gasparino, E., 2015. Quality evaluation of onion biscuits with aromatized fishmeal from the carcasses of the Nile tilapia. *Boletim Instituto Pesca*, 41, 719 – 728.

Costa, J.F., Nogueira, R.I., Freitassá, D.G., Freitas, S.P., 2016. Utilização de carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia na elaboração de farinha com alto valor nutricional. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 42, 548-565.

Feltes, M.M.C., Correia, J.F.G., Beirão, L.H., Block, J.M., Ninow, J.L., Spiller, V.R., 2010. Alternatives to adding value to the fish processing industry wastes. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 14, 669-677.

Fitzsimmons, K., Martinez-Garcia, R., Gonzales-Alanis, P., 2011. Why tilapia is becoming the most important food fish on the planet. *In* Proceedings of the ninth International Symposium in Tilapia in Aquaculture, Shanghai, China.

Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO, 1975. Expert consultation on small-scale fisheries development. FAO Fisheries Report, Rome:FAO.

Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO, 2014. The state of world fisheries and aquaculture: El estado mundial de la pesca y la acuicultura (SOFIA). Roma: FAO.

Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO, 2016. The state of world fisheries and aquaculture: El estado mundial de la pesca y la acuicultura (SOFIA). Roma: FAO.

Gatta, P.P., Pirini, M., Testi, S., Vignoli, G., Monetti, P.G. The influence of different levels of dietary vitamin E in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) flesh quality. *Aquaculture Nutrition*, 6, 47-52.

Godoy, L.C.; Gasparino, E.; Franco, M.L.R.S.; Franco, N.P. e Dourado, D.M., 2010. Testes físico-mecânicos e físico-químico do couro da tilápia vermelha. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 62, 475-480.

Goes, E.S.R., Souza, M.L.R., Kimura, K.S. Coradini, M.F., Verdi, R., Mikcha, J.M.G. 2016a. Inclusion of dehydrated mixture made of salmon and tilápia carcass in spinach cakes. *Acta Scientiarum. Technology*, 38, 241-246.

Goes, E.S.R., Souza, M.L.R., Michka, J.M.G., Kimura, K.S., Lara, J.A.F., Delbem, A.C.B., Gasparino, E., 2016b. Fresh pasta enrichment with protein concentrate of tilápia: nutritional and sensory characteristics. *Food Science Technology*. 36, 76-82.

Hall, G.M., Ahmad, N.H., 1992. Surimi and fish mince products. In: HALL, G. M. *Fish Processing Technology*. Glasgow, Blackie Academic & Professional, 23, 72-87.

Junior, W.M.M., Sales, R.O., 2013. Biotecnologia Propriedades Funcionais da Obtenção da Silagem Ácida e Biológica de Resíduos de Pescado. Uma Revisão. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 07, 126-156.

Kimura, K. S. F., Souza, M.L.R., Gasparino, E., Mikcha, J.M.G., Chambo, A.P.S., Verdi, R., Coradini, M. F., Marques, D.R., Feihmann, A., GOES, E. S. R. Preparation of lasagnas with dried mix of tuna and tilapia. *Food Science Technology*, ahead of print Epub Feb 06, 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612017005003101](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612017005003101) >. Acessado em 20 de junho de 2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457x.24816>.

Kubitza, F., 2006. Aproveitamento dos subprodutos do processamento de pescados. *Panorama da Aqüicultura*, 16, 23-29.

Lund, V. X., Figueira, M. L. O. 1989. Criação de Tilápias. São Paulo, Nobel.

Marengoni, N.G., Pozza, M. S. S.; Braga, G. C.; Lazzeri, D. B.; Castilha, L. D.; Bueno, G. W.; Pasquetti, T. J.; Polese, C., 2009. Caracterização microbiológica, sensorial e centesimal de fishburgers de carne de tilápia mecanicamente separada. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 10, 168-176.

- Medina-Meza, I.G., Barnaba, C., Barbosa-Cánovas, G.V., 2014. Effects of high pressure processing on lipid oxidation: a review. *Innovative food Science and emerging Technologies*, 22, 1-10.
- Minozzo, M.G., Waszczyński, N., Boscol, W.R., 2008. Utilização de carne mecanicamente separada de tilápia (*Oreochromis niloticus*) para a produção de patês cremoso e pastoso. *Alimentos e Nutrição*, 19, 315-319.
- Neto, R.T., Vitali, A.A., Quast, D. G., Mori, E. E. M., 1991. Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados. Manual Técnico nº 6. Campinas, ITAL.
- Nunes, E.S.C.L., Bittencourt, R.H.F.P.M., Silva, M.C., Mársico, E.T., Franco, R.M., 2013. Avaliação da qualidade do camarão salgado seco (aviú) e da farinha de peixe (piracuí) comercializados em mercados varejistas da cidade de Belém, Pará. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 72, 147-54.
- Nunes, M.L., Ogawa, M. 1999. Tecnologia do Pescado. In: Ogawa, M.; Maia, E.L. Manual de Pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado. 2° ed. São Paulo, SP. Livraria Varela.
- Nunes, S. B., 2001. Estabelecimento de um plano de análise de perigo e pontos críticos de controle (APPCC) para Peixe-Sapo (*Lophius piscatorius*) eviscerado e congelado. Florianópolis: UFSC, 2001. 121p. Dissertação Mestrado.
- Oliveira Filho, P. R. C.; Fávaro-Trindade, C. S.; Trindade, M. A.; Balieiro, J. C. C.; Viegas, E. M. M., 2010. Quality of sausage elaborated using minced Nile Tilapia submitted to cold storage. *Scientia Agricola*, 67, 183-190.
- Oliveira, I.S., Lourenço, L.F.H., Sousa, C.L., Joele, M.R.S.P., Ribeiro, S.C.A. 2015. Composition of MSM from Brazilian catfish and technological properties of fish flour. *Food Control*, 50, 38-44.
- Osawa, C.C., Felício, P.E., Gonçalves, L.A.G., 2005. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Química Nova*, 28, 655-663.
- Pessatti, M.L., 2001. Aproveitamento dos subprodutos do pescado. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, MA/SARC. (Relatório Final de Ações Prioritárias ao Desenvolvimento da Pesca e Aqüicultura no Sul do Brasil, Convênio Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) Meta 11, n.003/2000).
- Petenuci, M.E., Stevanato, F.B., Moraes, D.R., Santos, L.P., Souza, N.E., Visentainer, J.V., 2010. Composition and lipid stability of tilapia fishbone flour. *Ciência e Agrotecnologia*, 34, 1279-1284.
- Ramalho, V.C., Jorge, N., 2006. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, São Paulo, 29, 755-760.
- Rebouças, M. C.; Rodrigues, M. C. P.; Castro, R. J. S., 2012c. Biscoitos com concentrado proteico. *Alimentos e Nutrição*. Araraquara, 23, 45-50.
- Rebouças, M.C., Rodrigues, M.C.P., Castro, R.J.S, Vieira, J.M.M., 2012a. Caracterização do concentrado proteico de peixe obtido a partir dos resíduos da filetagem de tilápia do Nilo. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, 33, 697 – 704.

Rebouças, M.C., Rodrigues, M.C.P., Penha, M.F.A., Costa, W., 2012b. Desenvolvimento e aceitação sensorial de cookies de coco adicionados de concentrado proteico de pescado. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 30, 11-18.

Resende, E.K., Oliveira, C.A.L., Legat, A.P., Ribeiro, 2010. Melhoramento animal no Brasil: uma visão crítica espécies aquáticas. In: *Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal*, Maringá.

Rocha, C.M.C, Silveira, J.B.C., Ledo, C.S., Barreto, C.M.S., Norma, S.E. 2011. Composição e estabilidade de farinha de tilápia (*Oreochromis niloticus*) produzida artesanalmente para o consumo humano. *Magistra*, Cruz das Almas, 23, 215-220.

Sanes, F.S.M., Strassburger, A.S., Araújo, F.B., Medeiros, C.A.B., 2015. Compostagem e fermentação de resíduos de pescado para produção de fertilizantes orgânicos. *Semina: Ciências Agrárias*, 36, 1241- 1252.

Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas-SEBRAE, 2015. *Aquicultura no Brasil – Série de estudos mercadológicos*. 76p. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br>>. (Acesso em 29.06.2017).

Shahidi, F., Han, X.Q., Synowiecki, J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin. *Food Chemistry*. 53, 285-293.

Shankar, T.J., Sokhansanj, S., Bandyopadhyay, S., Bawa, A.S., 2010. Storage properties of low fat fish and rice flour coextrudates. *Food and Bioprocess Technology*, 3, 481-490.

Simões, D.R.S., Queiroz, M.I., Volpato, G., Zepka, L.Q., 2004. Desodorização de base protéica de pescado (BPP) com ácido fosfórico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 24, 23-26.

Souza, M.L.R., Yoshida, G.M., Campelo, D.A.V., Moura, L.B., Xavier, T.O., Goes, E.S. R., 2017. Formulation of fish waste meal for human nutrition. *Acta Scientiarum. Technology*. In press.

Stevanato, F.B., Almeida, V.V., Matsushita, M., Oliveira, C.C., Souza, N.E., Jesuí Visentainer, J.V. 2008. Fatty acids and nutrients in the flour made from tilápia (*Oreochromis niloticus*) heads. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28, 440-443.

Teixeira, A.T., Crepaldi, D.V., Faria, P.M.C., Ribeiro, L.P., Melo, D.C., Euler, A.C.A., Saliba, E.O.S., 2006. Substituição de farinha de peixes em rações para peixes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 30, 118-125.

Torres, E. A. F. S.; Okani, E. T., 1997. Teste de TBA: Ranço em alimentos. *Revista Nacional da Carne*, 243, 68-76.

Venugopal, V., Shahidi, F., 1995. Value-added products from underutilized fish species. *Critical Review Food Science Nutrition*. 35, 431-53.

Vidal, J.M.A., Rodrigues, M.C.P., Zapata, J.F.F., Vieira, J.M.M., 2011. Concentrado protéico de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização físico-química e aceitação sensorial. *Revista Ciências Agrônômica*, 42, 92-99.

Vidotti, R.M., Gonçalves, G.S., Martins, M.I.E.G., 2011. Farinha e Óleo de Resíduos de Tilápia: Informações Técnica e Econômica. Jaboticabal: Funep.

Vignesh, R., Srinivasan, M., 2012. Nutritional quality of processed head and bone flours of Tilápia (*Oreochromis mossambicus*, Peters 1852) from Parangipettai estuary, South East Coast of India. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2, 368-372.

Vila Nova, C.M.V.M., Godoy, H.T., Aldrigue, M.L., 2005. Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídios totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). Ciência e Tecnologia de Alimentos, 25, 430-436.

## II. OBJETIVOS GERAIS

- Caracterizar as farinhas obtidas a partir dos resíduos do beneficiamento da tilápia do Nilo, do ponto de vista nutricional, de estabilidade oxidativa e microbiológico;
- Avaliar a composição química, qualidade tecnológica, perfil sensorial e microbiológico de pão francês com adição de farinha elaborada a partir de carcaças de tilápia.

### **III. Produção de farinha a partir de resíduo de filetagem de tilápia do Nilo para aplicação na alimentação humana**

(Artigo formatado de acordo com as normas da Revista Ciência Rural)

#### **Production of flour from Nilo tilapia filter residue for application in human food**

#### **RESUMO**

Para dar destino adequado aos resíduos e utilizá-los racionalmente aproveitando seu potencial inerente a matéria-prima, o presente estudo teve como objetivo elaborar e caracterizar farinhas obtidas a partir de resíduos de filetagem da tilápia do Nilo, para aplicação na alimentação humana. Para tanto foram elaboradas três farinhas (tratamentos); farinha de cabeça, de carcaça, e de CMS de tilápia, com cinco repetições cada uma. Estas foram avaliadas em relação ao rendimento, qualidade microbiológica, pH, atividade de água ( $A_w$ ), composição química centesimal, valor energético, perfil de ácidos graxos e de aminoácidos, coloração e granulometria, cujos dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey com nível de 5%. As farinhas de cabeça, carcaça e CMS apresentaram rendimento médio de 13%, com valores médios para proteína de 50,3%, 56,6% e 79,0%, lipídeos 4,6%, 7,2% e 13% e cinzas de 38,4%, 32,6% e 4,3%, respectivamente. Os ácidos graxos de maior predominância foram o oleico; o palmítico, e o linoleico. Em todas as farinhas avaliadas houve prevalência dos aminoácidos; ácido glutâmico, leucina, lisina e glicina. O componente de cromaticidade  $L^*$  variou de 77,19 a 55,32,  $a^*$  de 4,44 a 4,88 e  $b^*$  de 4,13 a 9,51. Houve variação de 366 $\mu$ m a 986 $\mu$ m no Diâmetro Granulométrico Médio (DGM) das partículas das farinhas. A metodologia aplicada na elaboração das farinhas foi eficiente, controlando parâmetros intrínsecos à qualidade do alimento, como pH,  $A_w$  e o desenvolvimento microbiano, originando farinhas de elevado teor proteico e mineral, qualidades que justificam sua aplicação na alimentação humana.

**Palavras-chave:** Composição química, carcaça de peixe, cabeça de peixe, carne mecanicamente separada (CMS)

#### **ABSTRACT**

The purpose of this study was to elaborate and characterize flours obtained from filleting residues of Nile tilapia, for use in human food. Three flours (treatments) were elaborated; head, carcass, and tilapia CMS flours with five replicates. These were evaluated for yield, microbiological quality, pH,  $A_w$ , centesimal composition, lipid and amino acid profile, staining and granulometry, whose data were submitted to analysis of variance, and the means were compared by the Tukey test with significance at 5%. The mean values for protein of 50.3%, 56.6% and 79.0%, lipids 4.6%, 7.2% and 13%, ash of 38.4%, 32.6% and 4.3%, were obtained for presented head, carcass and CMS flours, respectively. The most prevalent fatty acids were oleic, palmitic, and linoleic. In all the evaluated flours, there was prevalence of glutamic acid, leucine, lysine and glycine amino acids. Chromaticity component  $L^*$  ranged from 77.19 to 55.32,  $a^*$  from 4.44 to 4.88 and  $b^*$  from 4.13 to 9.51. There was a variation of 366 $\mu$ m to 986 $\mu$ m in the Mean Sieve Diameter (DGM) of the flour particles. The methodology applied in the elaboration of the flour was efficient, controlling parameters intrinsic to the food quality, such as pH,  $A_w$

and microbial development, originating flours of high protein and mineral content, qualities that justify its application in human food.

**Key words:** Chemical composition, fish carcass, fish head, mechanically separated meat (CMS)

## INTRODUÇÃO

O aumento populacional e as mudanças no perfil do consumidor têm elevado a procura por alimentos saudáveis. O pescado tem grande importância dentro deste cenário pois, possui proteínas de alto valor biológico, ácidos graxos, das séries ômega-6 e ômega-3, minerais como o cálcio, fósforo, ferro e vitaminas A, D e do complexo B, em especial B12, tornando um produto de alto valor nutricional (CHO & KIM, 2011).

Para atender a demanda por alimentos de qualidade, em especial para o pescado e seus derivados, a estimativa é que ocorra um crescimento de 104% na produção da pesca e aquicultura nacional até 2025, significando acréscimo de, 1,3 milhão de toneladas, observados no período de 2013 a 2015, para 1,9 milhão em 2025 (FAO, 2016). Dentro deste cenário, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) tem grande destaque, sendo um dos principais peixes produzidos mundialmente representando 3,2 milhões de toneladas da produção aquícola registrada em 2012 (FAO, 2014). No Brasil, atualmente ela representa 45% de todo pescado produzido (FAO, 2016).

No entanto, com o aumento da produção de pescado também haverá incremento no montante de resíduos pois, estes representam cerca de 2/3 do volume da matéria-prima utilizada pela indústria (BOSCOLO & FEIDEN, 2007). No processo de filetagem da tilápia, por exemplo, a quantidade de resíduos pode chegar a valores entre 65 a 70% (VIDAL et al., 2011). No que diz respeito ao aproveitamento destes resíduos, a indústria ainda deixa a desejar, utilizando somente cerca de 58% do total de resíduos, limitando-se a fabricação de farinha de pescado para alimentação animal (68%) e o restante são descartados em aterros sanitários (23%) e/ou diretamente no meio ambiente (9%) (BOSCOLO & FEIDEN, 2007).

Considerando que, os resíduos mantenham as características da matéria-prima, desde que manipulados adequadamente, estes podem ser utilizados como matéria-prima para fabricação de produtos e subprodutos de pescado, e acarretaria em melhor aproveitamento de resíduos, gerando produtos alternativos com maior valor agregado e de excelente valor nutricional, incentivando, mesmo que de forma indireta, o consumo de pescado. Por exemplo, a carne mecanicamente separada (CMS) (OLIVEIRA et al., 2015;



COSTA et al., 2016), bem como, as cabeças (STEVANATO et al., 2008; VIGNESH & SRINIVASAN, 2012) e as carcaças inteiras (PETENUCCI et al., 2010) podem ser utilizadas para elaboração de farinha de peixe e aplicadas como base para elaboração de diversos produtos (VIDAL et al., 2011), como: macarrão (GOES et al., 2015), lasanha (KIMURA et al., 2017), biscoitos (CORADINI et al., 2015), bolos (GOES et al., 2016) e Cookie (FUSINATTO et al., 2015).

A elaboração de novos produtos, a inclusão desta farinha em alimentos cotidianos de baixo valor nutricional e o incentivo no consumo de produtos da pesca, pode ter grande contribuição na mudança dos hábitos alimentares, incentivando o consumo de alimentos mais saudáveis, auxiliando no combate à desnutrição crônica, o sobrepeso e a obesidade (FAO, 2016). Diante deste contexto, o presente estudo tem como objetivo elaborar e caracterizar farinhas obtidas a partir de cabeças, carcaças e CMS, oriundas de resíduos de filetagem de tilápia, com finalidade de aplicação na alimentação humana.

## **MATERIAL e MÉTODOS**

### **Obtenção das farinhas**

As farinhas foram elaboradas no Laboratório de Tecnologia de Pescado na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá, a partir de resíduos da indústria de filetagem de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), Smart Fish, localizada em Rolândia-PR. As carcaças (espinhaço com resíduo remanescente de filetagem, cabeça e nadadeiras) utilizadas foram preparadas removendo-se a cabeça, as nadadeiras, o excesso de gordura e os resquícios viscerais. Estas carcaças limpas foram divididas em dois lotes, um deu origem a farinha de carcaça (Trat 1), e o outro lote foi submetido a desossadeira mecânica para a obtenção da CMS (carne mecanicamente separada) para elaboração de farinha de CMS de tilápia (Trat 2). As cabeças foram utilizadas para elaboração da farinha de cabeça de tilápia (Trat 3). As matérias-primas (carcaça limpa e cabeça de tilápia) foram sanitizadas por imersão em solução com Peroxitane<sup>®</sup> 1512 AL, (sanitizante à base de ácido peracético, peróxido de hidrogênio, ácido acético e água) na concentração de 0,1 mg kg<sup>-1</sup>, por dez minutos, antes da obtenção da CMS e do início das etapas de elaboração das farinhas.

Para elaboração das farinhas, adaptou-se a metodologia descrita por Souza et al. (2017) e as matérias-primas foram moídas em moedor industrial de carne (modelo CAF-

10) adaptado com disco de 8 mm, cozidas sob pressão, em temperatura de 100°C, por 60min, em solução de razão 1:1 do resíduo cárneo e água contendo 200 mg kg<sup>-1</sup> do antioxidante butil-hidroxi-tolueno, BHT (BHT ACS 99,8%, Labsynth Brasil). Após o cozimento, o conteúdo foi prensado, em prensa hidráulica com capacidade 10 toneladas para a extração do excesso de água, a torta de prensa foi moída em moinho de carne e desidratadas em estufa com circulação forçada de ar para secagem a 55°C, por 24 horas. O material desidratado foi submetido a uma nova moagem em moinho tipo faca para a obtenção do produto final. O resíduo ósseo gerado durante o processo de separação mecânica da carne da tilápia em máquina despoldadeira foi queimado em mufla a 600°C, por 4 horas, dando origem a farinha de ossos calcinada que é um resíduo gerado na elaboração da farinha de CMS. As farinhas de cabeça, carcaça e CMS foram embaladas, identificadas e armazenadas em freezer a  $-18 \pm 2^\circ\text{C}$  até a realização das análises. Amostras em triplicata de cada farinha foram encaminhadas para análise de microbiologia imediatamente após sua elaboração.

#### Avaliação de rendimento

O rendimento de farinha foi calculado considerando o montante final de farinha obtido em relação a quantidade de matéria-prima (Carcaça, CMS e cabeça de tilápia) utilizada, bem como, as perdas durante o processo.

#### Análises microbiológicas das farinhas

As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório de Microbiologia e Microscopia de Alimentos, do Departamento de Análises Clínicas na Universidade Estadual de Maringá – UEM, para o número mais provável (NMP) de coliformes a 35°C e a 45°C, contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva em UFC/grama e de *Salmonella*, de acordo com APHA (1992). O protocolo microbiológico seguiu os padrões recomendados pela Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001).

#### Análises das propriedades químicas e físicas das farinhas

As análises químicas e físicas das farinhas foram realizadas no Laboratório de Alimentos e Nutrição Animal - LANA da Universidade Estadual de Maringá, utilizando três alíquotas de cada farinha.

A análise de composição centesimal (umidade e cinzas) foi realizada de acordo com a metodologia da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). Os

teores de proteína bruta foram avaliados pelo método de semimicro Kjeldahl (SILVA & QUEIROZ, 2002). A extração e quantificação de lipídeos totais das farinhas foram realizadas pela metodologia descrita por Bligh & Dyer, (1959). A partir do conteúdo desta extração foi realizada a determinação do perfil de ácidos graxos por meio da transesterificação do resíduo lipídico das farinhas, de acordo com a metodologia ISO (1978). Este procedimento permite que os ésteres metílicos sejam separados e identificados em cromatógrafo gasoso. As identificações dos ácidos graxos foram efetuadas por comparação dos tempos de retenção de ésteres metílicos de padrões do sigma (EUA) com os das amostras.

Os teores de carboidratos foram estimados por diferença utilizando uma fórmula matemática que considera a soma dos valores de umidade, proteína, lipídeos e (BRASIL, 2003). O valor calórico total foi obtido pela soma da multiplicação dos valores das médias de proteína, lipídios e carboidratos multiplicados pelos fatores 4, 9 e 4, respectivamente (SOUCI et al., 2000).

O perfil de aminoácidos foi realizado pelo Laboratório CBO de acordo com a metodologia descrita por Hagen et al. (1989) e a quantificação dos minerais cálcio, ferro e fósforo foram realizadas de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (2005).

Para a obtenção do pH das amostras, uma alíquota foi homogeneizada com água destilada (1:10 amostra/água) e submetido a leitura do pH com pHmetro (DM 22, Digimed, São Paulo, Brasil) por 5 minutos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

A atividade de água das amostras foi verificada utilizando o aparelho da marca Aw Sprint – Novasina TH-500.

Para caracterização granulométrica das farinhas e o diâmetro granulométrico médio (DGM) foi utilizada a metodologia descrita por Brasil (2009), em que uma fração de 100 gramas de cada amostra foi depositada em um conjunto de seis peneiras sobrepostas, com aberturas distintas da malha, sendo elas 0,15, 0,3, 0,6, 1,2, 2,0 e 4,0mm, e submetida à agitação por 10 mim para obtenção de material retido em cada peneira. Os resultados foram expressos em percentagem.

A colorimetria foi realizada utilizando um colorímetro digital (MINOLTA modelo CR-10; Minolta Camera Co., Osaka, Japan), com leitura sob ângulo de 90°, e temperatura e luminosidade ambiente, em que os parâmetros de leitura avaliados correspondem a: L\* (luminosidade L\*= 0 preto e L\*=100 branco), a\* (componente vermelho-verde) e b\* (componente amarelo-azul).

## Análise estatística

Utilizou-se delineamento inteiramente ao acaso com três tratamentos, sendo estes, a farinha de carcaça (Trat 1), farinha de CMS (Trat 2) e a farinha de cabeça (Trat 3), com cinco repetições cada tratamento. Cada unidade experimental foi representada por um lote de 5kg de resíduos (carcaça, CMS e cabeça).

Os resultados das variáveis analisadas, composição centesimal, valor calórico, granulometria, pH, Aw e colorimetria foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey com nível de 5% de probabilidade (SAS, 2005).

As análises de rendimento, microbiologia, ácidos graxos, aminoácidos e minerais foram realizadas apenas com finalidade de caracterização das diferentes Farinhas.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Durante o processo de elaboração das farinhas, as carcaças precisam ser manipuladas corretamente para que não ocorram desperdícios e contaminação, no entanto, é impossível fazer o reaproveitamento destas carcaças sem que sejam gerados novos resíduos, que neste caso, representam menos de 5%. Este valor, está associado às nadadeiras, excesso de gordura e aos restos viscerais aderidos a carcaça e que são retirados no processo de higienização que antecede a elaboração das farinhas.

Quando se trata de farinha de CMS, além do montante citado a cima, a obtenção da CMS resulta em 20% de resíduo ósseo e um valor variável de 15 a 20% de resíduos perdidos na máquina durante o processo. Estes resíduos, podem ser utilizados para fabricação de farinha de carne e ossos para a alimentação animal ou ainda, o resíduo ósseo também pode ser aproveitado, para obtenção de farinha de ossos calcinada (Tabela 1), melhorando a eficiência do sistema de reaproveitamento de resíduos, tornando-o mais sustentável.

Em termos de rendimento, o processo de elaboração das farinhas rendeu em média 13% de farinha, a de CMS em relação ao volume inicial de CMS, e as de carcaça e cabeça em relação ao montante de carcaça utilizado para o processo. Quando corrigidos os valores de rendimento da farinha de CMS para o volume inicial de carcaça utilizada, este montante diminui para 9% (Tabela 1). Embora o rendimento da farinha de CMS seja inferior e a sua obtenção mais trabalhosa que as de farinha de cabeça e carcaça, alguns fatores devem ser avaliados para escolher a matéria-prima ideal para a elaboração de

farinha de peixe para consumo humano, por exemplo a sua composição química, física e a finalidade de uso.

Tabela 1- Rendimento das frações obtidas durante a elaboração das farinhas de CMS, farinha de carcaça e cabeça de tilápia do Nilo

Frações obtidas durante a elaboração das farinhas	Farinha					
	Cabeça		Carcaça		CMS	
	g	%	g	%	g	%
Carcaças Limpas	5000±122	100	5000±86	100	5000±98	100
CMS	-	-	-	-	3067±53	61
Resíduo ósseo	-	-	-	-	1004±33	20
Material de descarte (máquina) *	-	-	-	-	929±27	19
Torta de prensa	1394±42	28	1675±45	33	951±39	31
Farinha	649±15	13	670±19	13	427±13	9
Farinha de resíduo ósseo calcinado	-	-	-	-	265±12	5

\*Material perdido por retenção ou contaminação na máquina de CMS ou durante os processos.

Os valores de rendimento obtidos no presente estudo (Tabela 1) são inferiores aos relatados por Vidal et al. (2011) cujo valor médio obtido durante o processo de obtenção de concentrado proteico de resíduos do beneficiamento de tilápia do Nilo (CPT) foi de 18,34%, e por Silva et al. (2006), que avaliando o processo de obtenção de um isolado proteico desenvolvido a partir de pescado de baixo valor comercial, obtiveram rendimento de 18%. No entanto, os valores obtidos no presente estudo foram similares aos valores relatados por Pessatti (2001), para elaboração de um concentrado proteico de peixe, através de lavagens sucessivas com etanol.

Uma das principais preocupações em relação ao reaproveitamento de resíduos para fabricação de subprodutos é que, devido ao excesso de manipulação e a falta de cuidados na conservação, este material pode apresentar alto nível de contaminação, podendo inviabilizar a sua utilização na alimentação humana. Contudo, desde que manipulados corretamente os subprodutos gerados se mantem hígidos.

Os resultados do estudo da pesquisa microbiológica realizada nas farinhas de cabeça, carcaça e CMS, atestam que estes produtos estão dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela RDC nº12, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001). Cujos valores, para Coliformes a 35°C e a 45°C foram inferiores a 3 NMP/g, *Staphylococcus coagulase* positiva foi inferior a  $1 \times 10^2$  UFC g<sup>-1</sup> e não houve presença de *Salmonella* em 25g de amostra. Inferindo que as farinhas produzidas neste estudo estavam aptas para o consumo humano.

Os diferentes tipos de matéria-prima utilizadas na elaboração das farinhas teve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) sob todas as variáveis avaliadas na composição centesimal (Tabela 2).

Tabela 2- Análise da composição centesimal, valor calórico, minerais, potencial hidrogeniônico (pH) e atividade de água (Aw) das farinhas de cabeça, carcaça e CMS de tilápia do Nilo

Parâmetros	Farinhas*			CV (%)
	Cabeça	Carcaça	CMS	
Composição Centesimal (%)				
Umidade	5,93±0,07a	3,43±0,0625b	3,63±0,09b	1,72
Proteína	50,33±0,27c	56,45±0,20b	78,60±0,23a	0,38
Lipídeos	4,58±0,08c	7,16±0,09b	13,15±0,12a	1,19
Cinzas	38,41±0,13a	32,61±0,31b	4,26±0,16c	1,00
Carboidratos	0,74±0,12a	0,32±0,20b	0,35±0,12b	31,94
Valor Calórico (kcal/100g) **				
-	245,51±0,82c	291,63±1,31b	434,17±0,50a	0,29
Minerais (mg/100g <sup>-1</sup> )***				
Cálcio	57,0	54,8	48,2	-
Ferro	0,4	0,6	0,7	-
Fósforo	229,0	213,3	272,9	-
Potássio	39,9	39,9	39,9	-
Magnésio	23,2	21,4	21,2	-
Zinco	0,5	0,5	4,3	-
Parâmetros físicos ****				
pH	7,15±0,04b	7,33±0,06a	7,13±0,03b	0,62
Aw	0,36±0,05a	0,29±0,02c	0,31±0,02b	1,22

\*Médias na mesma linha seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*\* Valor calórico = (Proteína bruta x 4) + (lipídeos x 9) + (carboidratos x 4). CV, coeficiente de variação. Dados expressos em média ± desvio padrão. \*\*\*Valores descritivos. \*\*\*\* parâmetros adimensionais.

A umidade das farinhas de carcaça e CMS manteve valor médio de 3,5%, enquanto a farinha de cabeça apresentou valores mais elevados de 5,95% ( $p < 0,05$ ). Contudo, os valores obtidos para esta variável estão de acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de origem animal (BRASIL, 1997), que descreve que o pescado seco íntegro não deve conter mais que 12% de umidade.

Os valores de pH das farinhas de cabeça e CMS ficaram em torno de 7,14, e a de carcaça 7,33 (Tabela 2). De acordo com estes resultados, as farinhas podem ser classificadas como pouco ácidas ( $pH > 4,5$ ). Estes valores de pH são compatíveis com os valores de pH de camarão (6,8 a 7,0), peixe fresco (6,6 à 6,8) e crustáceos (6,8 à 7,0) (IANFES, 1991).

A Aw das farinhas de cabeça, carcaça e CMS manteve valores médios de 0,36, 0,29 e 0,31, respectivamente (Tabela 2). Estes valores diferem do valor médio de 0,16

Aw do CPP, medido a  $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ , por Vidal et al. (2011). Os valores obtidos indicam que as farinhas têm boa estabilidade microbiológica e enzimática, pois, apresentam Aw inferior a 0,60, zona limítrofe em que se tem pouco ou nenhum crescimento de micro-organismos.

A qualidade microbiológica, a umidade, a Aw e o pH são fatores relevantes na manutenção da qualidade dos alimentos. O pH elevado associado a alta atividade água pode favorecer a proliferação de micro-organismos como a *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *E. coli*, *Shigella*, *Clostridium*, *S. aureus* (IANFES, 1991). Desta forma, os valores (Tabela 2) de umidade, Aw e o pH das farinhas obtidas neste trabalho estão dentro do esperado para que suas características sensoriais e nutritivas não sejam afetadas.

Os maiores teores de proteína (78,60%) e lipídeos (13,15%) foram encontrados na farinha de CMS e os menores na farinha de cabeça de tilápia ( $p < 0,05$ ), sendo estes de 50,33% e 4,58%, respectivamente. Inversamente proporcional a estes resultados os teores de cinzas foram maiores na farinha de cabeça (38%) e carcaça (33%), quando comparados aos valores médios obtidos para farinha de CMS (4%) (Tabela 2). Estes resultados são facilmente justificados uma vez que, a farinha de CMS é composta por resíduos cárneos (músculo esquelético e gordura) e apenas poucos resquícios de ósseos e de cartilagem que passam pela máquina despulpadeira. A farinha de carcaça por sua vez, possui porções representativas de músculo e ossos, diminuindo a proporção de proteína e de gordura em 28% e 45%, respectivamente, e elevando em 15% a concentração de minerais, em relação a farinha de CMS. A farinha de cabeça por sua vez, apresenta maior proporção de ossos do que musculatura, sendo assim, seu conteúdo proteico e lipídico é inferior em 35% e 65%, respectivamente, quando comparada com a farinha de CMS. No entanto, possui aproximadamente 90% mais minerais.

Como a farinha tende a manter as características nutricionais da matéria-prima que a compõe, assim como a composição do pescado, conseqüentemente o seu valor nutricional varia em função de vários fatores como: espécie, idade, sistema de cultivo, alimentação, peso, entre outros fatores (ALMEIDA & FRANCO, 2006), existe na literatura grande amplitude de valores referentes a composição nutricional de pescado e seus derivados como a farinha de peixe (SOUZA et al., 2017., STEVANATO et al. 2008; PETENUCCI et al., 2009; FREITAS et al., 2012; REBOUÇAS et al., 2012; VIGNESH & SRINIVASAN, 2012).

Petenucci et al. (2009) ao avaliarem a composição da farinha de espinhaço de tilápia do Nilo verificaram valores de umidade (14,2%) e lipídeos (25,3%) superiores aos do presente estudo (Tabela 2), e valores inferiores de proteína (40,8%) e matéria mineral (18%).

Em estudos realizados por Vignesh e Srinivasan (2012) e Stevanato et al. (2008) com farinha de cabeça de tilápia, os valores de umidade corroboraram com os da farinha de cabeça do presente estudo, os teores de proteína e matéria mineral foram inferiores. O teor de lipídeos, no entanto, não foi semelhante em nenhum dos trabalhos sendo que Vignesh e Srinivasan (2012) obtiveram valores muito menores (0,2%) e Stevanato et al. (2008) valores muito maiores (35,46%) aos relatados no presente estudo (Tabela 2).

Rebouças et al. (2012) ao trabalharem na caracterização do concentrado proteico de peixe obtido a partir dos resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (Farinha de CMS), obtiveram valores de umidade (4,85%), proteína (85,00%), matéria mineral (2,45%) e lipídeos (8,20%) semelhantes aos encontrados para a farinha de CMS neste trabalho (Tabela 2). Vidal et al. (2011) também relataram valores semelhantes aos do presente estudo, porém os valores referentes ao teor de gordura foram bem maiores, por volta de 30%.

Vidotti e Gonçalves (2006) relataram 56% de proteína bruta, 16% de extrato etéreo e 22% de matéria mineral na composição da farinha de tilápia, sendo que proteína e matéria mineral foram superiores aos obtidos na farinha deste experimento. Os autores também relataram a composição da farinha de salmão *Salmo solar* (65% de proteína bruta, 8% extrato etéreo e 13% de matéria mineral) e de corvina *Argyrosomus regius* (52% de proteína bruta, 6% de extrato etéreo e 14-24% de matéria mineral).

Embora o conteúdo de carboidratos presente na farinha de cabeça tenha sido superior ( $p < 0,05$ ) ao encontrado nas farinhas de carcaça e de CMS, seus valores representam menos de 1% da composição das farinhas (Tabela 2). Estes valores são similares aos apresentados por Vignesh e Srinivasan (2012) que ao avaliarem a qualidade nutricional de farinha de cabeças de tilápia do Nilo relataram valores próximos a 1%.

Quanto ao valor calórico, a farinha de CMS apresentou valores 33% e 44% maiores que as farinhas de carcaça e cabeça, respectivamente, devido a concentração dos componentes envolvidos na fórmula, em especial ao teor de lipídeos (Tabela 2). Segundo Minozzo (2011) o valor calórico dos peixes, como alimento, depende particularmente do teor de gordura. Em comparação a farinha de cereais, o valor calórico obtido para as



farinhas de carcaça e cabeça, são menos calóricas que as farinhas de milho, trigo e arroz cujos valores variam de 330 a 370 kcal 100g<sup>-1</sup>. A farinha de CMS, no entanto, é mais calórica, com valores superiores até a farinha láctea de cereais que possui valor médio de 415 kcal 100g<sup>-1</sup> de acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011). Contudo, o valor calórico das farinhas de cereais está relacionado basicamente a seu conteúdo de quase 80% de carboidratos, a substituição dessas farinhas em produtos alimentícios por farinha de peixe, pode enriquecer o alimento em proteína e lipídeos diminuindo os carboidratos e até mesmo o valor calórico dependendo da matéria-prima utilizada na elaboração da farinha.

Os valores dos minerais das farinhas apresentados na Tabela 2, são meramente descritivos, não tendo intuito de comparar os tratamentos. Porém, estes valores não apresentaram grande variação entre as farinhas de cabeça, carcaça e CMS. Independente dos tratamentos os valores variaram de 48-57 mg 100g<sup>-1</sup> para o cálcio, 0,4-07 mg 100g<sup>-1</sup> de ferro, 213-273 mg 100g<sup>-1</sup> de fósforo, 21-23 mg 100g<sup>-1</sup> de magnésio e valores médios de 40 mg 100g<sup>-1</sup> de potássio, 0,5 mg 100g<sup>-1</sup> de zinco.

Valores superiores aos do presente estudo foram relatados por Costa et al. (2016) para a farinha de CMS de alto valor nutritivo, estes autores encontraram valores entre 76-273 mg.100g<sup>-1</sup> de cálcio, 1,73-28,1 mg.100g<sup>-1</sup> de ferro, 346-697 mg.100g<sup>-1</sup> de fosforo, 56-130 mg.100g<sup>-1</sup> de magnésio e de 657- 1100 mg.100g<sup>-1</sup> de potássio. Souza et al, (2017) no entanto, relataram valores similares aos do presente estudo para a farinha de carcaças de tilápia, sendo 1,78 g de cálcio, 2,36 mg de ferro e 5,47 mg de fósforo em 100g de farinha de tilápia.

A concentração de minerais obtidas nas farinhas de cabeça, carcaça e CMS de tilápia (Tabela 2) indica que as farinhas são boas fontes minerais, podendo contribuir no aporte de minerais na dieta de modo a atender as necessidades diárias, para adultos e crianças respectivamente, de cálcio (1000mg e 700mg), ferro (14mg e 9mg); zinco (7mg e 5,6mg) e magnésio (260mg e 100mg) de acordo com o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteínas, vitaminas e minerais da ANVISA, RDC n° 269, de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005).

Em relação ao perfil lipídico das farinhas não foi detectada a presença de gorduras trans, houve predominância de 65-66% de gorduras insaturadas entre os tratamentos, com prevalência de ácidos graxos monoinsaturados, representando 34%, 39% e 43% para as farinhas de cabeça, carcaça e CMS, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3- Perfil de ácidos graxos e aminoácidos das farinhas de cabeça, carcaça e CMS de tilápia do Nilo

Ácido graxo	Farinha g.100g <sup>-1</sup>		
	Cabeça	Carcaça	CMS
Mirístico (C14:0)	0,2	0,4	0,9
Palmítico (C16:0)	2,0	2,8	10,1
Palmitoleico (C16:1)	0,4	0,3	0,4
Esteárico (C18:0)	0,6	0,9	2,2
Oleico (C18:1n9c)	2,3	4,4	14,6
Linoleico (C18:2n6c)	1,4	2,4	6,7
Gama-Linolênico GLA (C18:3n6)	0,1	0,1	0,3
Alfa Linolênico LNA (C18:3n3)	0,1	0,1	0,6
Cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	0,1	0,2	0,9
Cis-8,11,14-Eicosatrienoico (C20:3n6)	0,2	0,0	0,0
Araquidônico AA (C20:4n6)	0,5	0,6	0,6
Nervônico (C24:1n9)	0,0	0,0	0,4
Docosaheptaenoico DHA (C22:6n3)	0,2	0,3	0,3
Σ Ac. Graxos Monoinsaturados	2,9	4,9	16,4
Σ Ac. Graxos Poli-insaturados	2,5	3,5	8,6
Σ Ac. Graxos Insaturados	5,4	8,4	25,0
Σ Ac. Graxos Saturados	2,9	4,3	13,2
Σ Ac. Graxos Trans	0,0	0,0	0,0
Σ Ac. Graxos ω <sup>3</sup>	0,3	0,4	1,0
Σ Ac. Graxos ω <sup>6</sup>	2,1	3,1	7,6
Σ Ac. Graxos ω <sup>9</sup>	2,5	4,6	15,9
ω <sup>6</sup> / ω <sup>3</sup>	7,0	7,8	7,6
Aminoácido	g.100g <sup>-1</sup>		
Ácido Aspártico	2,3	3,71	3,8
Ácido Glutâmico	4,0	6,1	8,2
Serina	2,0	2,4	2,7
Glicina	3,8	3,9	4,2
Histidina*	1,3	1,3	1,2
Taurina	0,0	0,0	0,0
Arginina	3,3	3,6	3,4
Treonina*	2,2	2,6	2,6
Alanina	3,2	2,5	2,1
Prolina	2,8	2,9	3,2
Tirosina	1,9	2,1	2,8
Valina*	2,4	2,7	2,9
Metionina*	1,2	1,5	1,8
Cistina	0,4	0,5	0,9
Isoleucina*	2,3	2,7	2,8
Leucina*	3,7	4,2	6,4
Fenilalanina*	2,1	2,3	2,7
Lisina*	4,0	4,9	5,2
Triptofano*	0,4	0,4	0,4
Σ Aminoácidos	42,9	51,3	57,3
Σ Aminoácidos Essenciais	19,4	22,6	26,1

\* Aminoácidos essenciais.

Os ácidos graxos predominantes, dentre os 13 detectados (Tabela 3), nas farinhas de cabeça, carcaça e CMS, respectivamente, foram: o oleico (C18:1n9), 2,3, 4,4 e 14,6 g 100g<sup>-1</sup> que tem efeito hipolipidêmico significativo, diminuindo os níveis séricos de colesterol e triacilgliceróis quando utilizado em substituição a fontes de gordura saturada (Martin et al., 2006); o palmítico (C16:0), 2,0, 2,8 e 10,1 g 100g<sup>-1</sup> que é um dos mais hipercolesterolêmicos e aterogênicos, e quando consumido em grande quantidade é considerado fator dietético de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular (MAHAN et al., 2005); e o linoleico (C18:2n6), 1,4, 2,4 e 6,7 g 100g<sup>-1</sup>.

Embora tenha sido constatada a presença de ácidos graxos da série ômega 3 (n-3), estes representaram menos de 1% dos ácidos graxos totais, os ácidos graxos da série ômega 6 (n-6) apresentaram valores variando de 2,1 a 7,6 g 100g<sup>-1</sup> entre as farinhas estudadas. Os ácidos graxos da série ômega 9 (n-9) se sobressaíram chegando a valores de até 15 g 100g<sup>-1</sup> na farinha de CMS. Formas importantes de ômega-3 e ômega-6 foram detectadas, como o docosahexaenoico (DHA), o  $\alpha$ -linolênico (LNA) e o  $\gamma$ -linolênico (GLA). Estes ácidos graxos poli-insaturados (n3, n6 e n9) exercem funções indispensáveis para o organismo humano, no controle e prevenção de doença cardiovascular, artrite, câncer e outras doenças crônicas, e em sua maioria só podem ser adquiridos através da dieta, por esse motivo, são considerados essenciais (GODOY et al., 2013).

A relação n-6/n-3 manteve valores entre 7,0 e 7,8 (Tabela 3). De acordo com estes resultados as farinhas de cabeça, carcaça e CMS possui boa relação n-6/n-3, segundo as recomendações de 5-10:1 da Food and Agriculture Organization (WHO & FAO, 1995). Estes valores também são inferiores à média geral consumida na dieta cotidiana da maioria dos brasileiros, cuja relação ômega-6/ômega-3 está em torno de 10 a 25. No entanto, encontram-se acima do que se espera em uma alimentação saudável, o valor recomendado pela *Japan Society of Lipid Nutrition* para esta relação deve ser de no máximo 4 a 5:1 para adultos saudáveis, e de 2:1 na prevenção de doenças crônicas em idosos (MARTIN et al., 2006).

A relação desfavorável entre o ômega-6/ômega-3 obtidas nas farinhas estão relacionadas a composição lipídica da matéria-prima, a tilápia é um peixe de água doce, que possui baixa concentração de ômega-3 e maior proporção de ômega-6 e 9.

Os padrões de recomendação da relação entre estes ácidos graxos são estabelecidos com base em uma dieta saudável e de baixo de risco, usando como modelo

o perfil alimentar da população mundial e sua qualidade de vida, sendo assim, o ideal é que a relação ômega-6/ômega-3 mantenha valores baixos pois, existe uma competição entre estes ácidos graxos por enzimas, sendo que, o excesso de um determinado ácido graxo afetará diretamente o metabolismo do outro (Godoy et al., 2013).

Diferindo do presente estudo, Godoy et al. (2013) relataram a presença de 23 ácidos graxos em farinhas aromatizadas elaborados a partir de carcaça de tilápia do Nilo, dentre eles os AGPI n-3 de grande importância como o ácido eicosapentaenoico (EPA), não relatado no presente estudo, e o docosahexaenoico (DHA). Costa et al. (2016) também verificaram a presença de 23 ácidos graxos em farinha de CMS de tilápia, porém, o perfil lipídico obtido por estes autores é similar aos do presente estudo com prevalência de ácidos graxos monoinsaturados cujos valores variaram de 8,6 a 24,5 g 100g<sup>-1</sup> entre os tratamentos.

Por meio do perfil de aminoácido das farinhas de cabeça, carcaça e CMS foi possível verificar valores aproximados de 43 e 57 g 100g<sup>-1</sup> de aminoácidos, dos quais, aproximadamente 45% são essenciais, independente do tratamento utilizado. Embora não tenha sido realizada uma análise comparativa entre as farinhas, numericamente os maiores teores foram registrados na farinha de CMS, para a maioria dos aminoácidos. Em todas as farinhas avaliadas houve prevalência dos aminoácidos; ácido glutâmico, leucina, lisina e glicina (Tabela 3). Estes valores corroboram com os relatados por Vidotti e Gonçalves (2006), Cho e Kim (2010) e Costa et al. (2016). Estes últimos autores, no entanto, relataram valores expressivos de aminoácidos no CMS, sendo que após o processamento (secagem em estufa de 40, 50 e 60 °C) para obtenção das farinhas, estes valores foram reduzidos em mais de 50%, relatando assim, valores bem inferiores aos do presente estudo, para a maioria dos aminoácidos.

Do ponto de vista qualitativo, a farinha de CMS melhor corresponde às expectativas em relação as exigências em aminoácidos essenciais proposta pela FAO/WHO (1990) para crianças de 2 a 5 anos de idade que é de fenilalanina + tirosina 6,3 g 100g<sup>-1</sup>, histidina 1,9 g 100g<sup>-1</sup>, isoleucina 2,8 g 100g<sup>-1</sup>, leucina 6,6 g 100g<sup>-1</sup>, lisina 5,8 g 100g<sup>-1</sup>, metionina + cistina 2,5 g 100g<sup>-1</sup>, treonina 3,4 g 100g<sup>-1</sup>, triptofano 1,1 g 100g<sup>-1</sup> e valina 3,5 g 100g<sup>-1</sup>. A farinha de CMS, no entanto, apresentou como aminoácido limitante o triptofano, cujo, atendeu somente 11% da exigência. As demais farinhas testadas correspondem parcialmente as expectativas de exigências da maioria dos aminoácidos.

De acordo com Vidotti e Gonçalves (2006) a qualidade da proteína refere-se à capacidade de satisfazer os requerimentos nutricionais por aminoácidos essenciais e nitrogênio não essencial. Na farinha de tilápia do Nilo, destaca-se a boa relação entre os aminoácidos essenciais, entre eles, a arginina, lisina, metionina, treonina.

A análise dos componentes de cor L\*, a\* e b\* mostrou variação significativa entre as diferentes farinhas, tendo o componente L\* (luminosidade ou brilho) variado de 77,19 a 55,32, sendo a mais escura a farinha de CMS (Tabela 4). O elevado teor de gordura desta farinha pode ter diminuído o efeito da luminosidade sobre esta amostra deixando-a mais escura (opaca) quando comparada as demais.

Tabela 4- A colorimetria das farinhas de cabeça, carcaça e CMS de tilápia do Nilo

Coordenadas de cromaticidade <sup>1</sup>	Farinhas			
	Cabeça	Carcaça	CMS	CV (%)
L*	62,49±0,93b	77,19±0,43a	55,32±0,46c	1,00
a*	4,88±0,10a	4,82±0,061a	4,44±0,13b	2,21
b*	4,13±0,27c	5,29±0,20b	9,51±0,08a	0,29

<sup>1</sup>Médias na mesma linha seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). CV, coeficiente de variação. Dados expressos em média ± desvio padrão.

A coordenada de cromaticidade a\* das farinhas apresentou valor médio de 4,73, e embora a farinha de CMS tenha apresentado um valor significativamente menor que as farinhas de cabeça e carcaça, esta variação é pequena não alterando drasticamente a tonalidade da cor, cuja é desprovida da tonalidade verde com leve tendência ao vermelho, devido a variação deste componente de cor que vai de verde (-60) a vermelho (+60). Já a coordenada de cromaticidade b\*, que varia de azul (-60) até amarelo (+60), apresentou uma variação de 4,13 a 9,51, mostrando tendência ao amarelo em todas as farinhas analisadas, com maior intensidade para a farinha de CMS, seguida da farinha de carcaça (Tabela 4).

Os valores relatados neste trabalho, para a cor das farinhas (Tabela 4), diferem dos obtidos por Costa et al. (2016) que ao trabalharem na elaboração de farinha de alto valor nutritivo utilizando carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia do Nilo, relataram valores inferiores para L\* variando de 50,57 a 59,16 e de a\* de 0,80 a 3,39, e superiores para b\* de 12,03 a 14,24. Assim, como também diferem dos valores relatados por Fuzinato et al. (2015), que ao elaborarem farinha de peixe, a partir de tilápias do Nilo tratadas com produtos homeopáticos, para inclusão em Cookie, relataram valores menores que os do presente estudo (Tabela 4) para L\* e a\*, cujos variaram de 41,73 a 42,79 e 1,47 a 1,80, respectivamente. No entanto, estes autores obtiveram maior tendência

ao amarelo, com valores variando de 19,42 a 20,11 para b\*. Esta divergência entre os valores obtidos no presente estudo e os relatados na literatura pode estar relacionada a fatores como, matéria-prima e metodologia utilizada na elaboração das farinhas.

Na avaliação do Diâmetro Granulométrico Médio (DGM) das farinhas, foi possível verificar variação de 366µm a 986µm no tamanho das partículas ( $p < 0,05$ ), e as partículas mais grossas referem-se a farinha de CMS e as mais finas a farinha de carcaça, apresentando a farinha de cabeça um diâmetro intermediário (Tabela 5).

Tabela 5- Diâmetro geométrico médio (DGM) e perfil de distribuição de partículas finas (PF), médias (PM) e grossas (PG) das farinhas de cabeça, carcaça e CMS de tilápia do Nilo

	Farinhas*			CV (%)
	Cabeça	Carcaça	CMS	
DGM (µm)	450±0,015b	366±0,05c	986±0,05a	1,63
PF %	85,32±0,92b	91,66±0,06a	0,47±0,12c	0,90
PM %	14,00±0,88b	7,40±0,12c	98,64±0,24a	1,33
PG%	0,64±0,11b	0,96±0,15a	0,88± 0,14a	1,69

\*Médias na mesma linha seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). CV, coeficiente de variação. Dados expressos em média ± desvio padrão.

O perfil de distribuição das partículas nas peneiras também respondeu significativamente à matéria-prima utilizada na elaboração das farinhas. Sendo que as farinhas de carcaça e cabeça obtiveram maior percentual de partículas finas (85 e 92%), as partículas médias variaram de aproximadamente 7 a 14% e menos de 1% de partículas grossas. Diferindo do padrão granulométrico observado na farinha de CMS que obteve quase 100% das partículas retidas em peneira média (Tabela 5). Considerando esses dados, pode-se definir que para as farinhas avaliadas, a farinha de CMS manteve um padrão mais homogêneo que as farinhas de carcaça e cabeça, porém, seu DGM foi maior. Considerando a dificuldade na moagem de resíduos ósseos presentes na farinha de carcaça e cabeça é plausível que se observe maior heteroneidade nesses produtos. Contudo, o teor de gordura presente na farinha de CMS pode ter dificultado a dispersão das partículas finas, concentrando este material nas peneiras médias e conseqüentemente elevando o valor do DGM.

Embora seja interessante caracterizar o perfil granulométrico das farinhas, e que seu perfil de textura pode estar relacionado a sua digestibilidade e disponibilidade de seus nutrientes, esta é uma variável que depende de muitos fatores como, a matéria-prima utilizada, tipo de equipamento utilizado na moagem e tempo de exposição ao moinho.

A maioria dos trabalhos existentes na literatura com o aproveitamento de resíduos de pescado para elaboração de farinha, para consumo humano, não fornecem dados referentes a cor, granulometria, pH, estabilidade oxidativa e dados mercadológicos como aceitabilidade e intenção de compra pelo consumidor. Assim como, a padronização deste produto, pois, pode-se encontrar grande amplitude de variação e muita discrepância entre os dados literários especialmente ao que se refere à composição. Sendo assim, e considerando o potencial nutritivo deste produto e sua aplicação tecnológica no enriquecimento nutricional de alimentos cotidianos de baixo valor nutritivo, novas pesquisas devem ser realizadas no intuito de fornecer suporte para que a indústria possa elaborar e aplicar a farinha de peixe em produtos alimentícios de baixo valor nutricional, tais como pães, massas e bolos.

## CONCLUSÕES

A metodologia aplicada neste trabalho para a elaboração de farinhas de cabeça, carcaça e CMS, a partir de resíduos de filetagem da tilápia do Nilo, foi eficiente em controlar parâmetros intrínsecos a qualidade do alimento, como pH, Aw e o desenvolvimento microbiano obtendo farinhas com elevado teor proteico (50-79%), rica em minerais (30%), ácidos graxos insaturados e nos aminoácidos ácido glutâmico, leucina, lisina e glicina. Nutricionalmente a farinha de CMS se destacou pelo seu elevado teor proteico e maior porcentagem de aminoácidos essenciais, porém seu elevado teor de gordura pode influenciar desfavoravelmente em parâmetros tecnológicos como, a cor e a granulometria. Conclui-se que as farinhas apresentam qualidades que justificam sua aplicação na alimentação humana.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, N. M.; FRANCO, M.R.B.. Determination of Essential Fatty Acids in Captured and Farmed Tambaqui (*Colossoma macropomum*) from the Brazilian Amazonian Area. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, p. 707-711. 2006. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11746-006-5027-9> > . Acesso em 15 julho de 2017. doi: <https://doi.org/10.1007/s11746-006-5027-9>.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry**. 12 ed. Washington, 1995. 1090p.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 18. ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.

APHA - AMERICAM PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3. ed. Washington: 15 APHA, 1992.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry**, v. 37, p. 911-17, 1959. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.1139/o59-099>>. Acessado em 16 julho 2017. doi: <https://doi.org/10.1139/o59-099>.

BOSCOLO, W.; FEIDEN, A. **Industrialização de Tilápias**. Toledo/ PR. GFM Gráfica & Editora, 2007. 272p.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. (2005). **Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais (Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005)**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA). Brasília, 1997. **Disponível em:** [http://www.crq4.org.br/sms/files/file/microbiologia2\\_alimentos\\_2008.pdf](http://www.crq4.org.br/sms/files/file/microbiologia2_alimentos_2008.pdf)>. Acessado em: 10/06/17.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o “**Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**”. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília (DF), de 02 janeiro de 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. **Diário Oficial** [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Sindicato Nacional de Indústria de Alimentação Animal. Associação Nacional dos Fabricantes de Rações. **Compêndio brasileiro de alimentação animal**. São Paulo: ANFAR/CBNA/SDR, 2009.

CHO, J. H.; KIM, I. H. Fish meal – nutritive value. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 95, p.685–692 2011. Disponível em <<http://dx.doi.org/doi:10.1111/j.1439-0396.2010.01109.x>>. Acessado em 15 julho de 2017. doi: 10.1111/j.1439-0396.2010.01109.

CORADINI, M. F. et al. Quality evaluation of onion biscuits with aromatized fishmeal from the carcasses of the Nile tilapia. **Boletim Instituto Pesca**, v.41 (esp.), p. 719 – 728, 2015. Disponível em: <[http://www.simcope.com.br/files/modelo-de-artigo\\_Especial\\_BIP\\_719-728.pdf](http://www.simcope.com.br/files/modelo-de-artigo_Especial_BIP_719-728.pdf)>. Acesso em 12 de julho de 2017.

COSTA, J.F.; et al. Utilização de carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia na elaboração de farinha com alto valor nutricional. **Boletim Instituto de Pesca**. v. 42,



p.548-565. 2016. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/bolinstpesca/article/view/33985>>. doi: 10.20950/1678-2305.2016v42n3p548.

FAO - Food And Agriculture Organization/World Health Organization. 1990. Protein quality evaluation: report of a joint FAO/WHO expert consultation group. **Rome, FAO/WHO**.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014). The state of world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges. Roma: **Rome, FAO/WHO**.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2016). The state of world fisheries and aquaculture: El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016 (SOFIA). **FAO/WHO**.

FREITAS, D.G.C. et al. The sensory acceptability of a tilápia (*Oreochromis niloticus*) mechanically separated meat-based spread. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, p.166-173. 2012. Disponível em: <[http://www.scielo.br/pdf/bjft/v15n2/aop\\_bjft\\_2610.pdf](http://www.scielo.br/pdf/bjft/v15n2/aop_bjft_2610.pdf)>. Acessado em 20 junho de 2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1981-67232012005000010>.

FUSINATTO, M.M. et al. Influence of a homeopathic product on performance and on quality flour and cookie (Grissini) of Nile tilápia. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 9, n.27, p. 675-683, 2015. Disponível em:<[http://www.academicjournals.org/article/article1438873586\\_Fuzinato%20et%20al.pdf](http://www.academicjournals.org/article/article1438873586_Fuzinato%20et%20al.pdf)>. Acessado em 20 junho de 2017. doi: 10.5897/AJPP2014.4308.

GODOY, L. C. et al. Development, preservation, and chemical and fatty acid profiles of Nile tilápia carcass meal for human feeding. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 37, p. 93-99. 2013. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1745-4549.2011.00624.x/full>>. Acessado em 21 de junho de 2017. doi: 10.1111/j.1745-4549.2011.00624.x.

GOES, E. S. R. et al. Inclusion of dehydrated mixture made of salmon and tilápia carcass in spinach cakes. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 38, p. 241-246, 2016. Disponível em:<[file:///C:/Users/User/Downloads/28852-138351-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/28852-138351-1-PB%20(1).pdf)>. Acessado em 20 junho de 2017. doi: 10.4025/actascitechnol.v28i2.28852.

GOES, E. S. R. et al. E. Fresh pasta enrichment with protein concentrate of tilápia: nutritional and sensory characteristics. **Food Science Technology**. v. 36, p. 76-82. 2016. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612016000100076](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612016000100076)>. Acessado em 22 de junho de 2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.0020>.

HAGEN S. R. et al. Precolumn Phenylisothiocyanate Derivatization and Liquid-Chromatography of Amino-Acids in Food. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, p. 912-916.1989.

IANFES- International Association of Milk, Food and environmental Sanitarians. **Guia de procedimento para Implantação do Método de Análise de perigos em Pontos críticos de Controle (APPCC)**. São Paulo (SP), consultoria em alimentação. 1997.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985.

ISO. **Meat and meat products**. Determination of fat acids, TC 34- 3496, 1978.

KIMURA, K. S. et al. Preparation of lasagnas with dried mix of tuna and tilápia. **Food Science Technology**, ahead of print Epub Feb 06, 2017. Disponível em:< [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612017005003101](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612017005003101) >. Acessado em 20 de junho de 2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457x.24816>.

MAHAN, K. L. et al. **Krause Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. Elsevier, 13. Ed. 2005. 48p.

MARTIN, A. et al. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods Clayton. **Revista de Nutrição**, v. 19, p.761-770. 2006. Disponível em:<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-2732006000600011](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-2732006000600011)>. Acesso em 21 de junho de 2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732006000600011>.

MINOZZO, M. G. **Processamento e Conservação do Pescado**. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – Paraná. 1. ed. 2011. 166p.

OLIVEIRA, I. S. et al. Composition of CSM from Brazilian catfish and technological properties of fish flour. **Food Control**, v.50, p.38-44. 2015. Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514004678>>. Acessado em 21 de junho de 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.08.018>

PESSATTI, M. L. (Coord.). **Aproveitamento dos sub-produtos do pescado**. Itajaí: MAPA/UNIVALI, 2001, 27 p.

PETENUCCI, M. E. et al. Composição e estabilidade lipídica da farinha de espinhaço de tilápia. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, p.1279-1284. 2010. Disponível em:< [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-70542010000500028](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542010000500028)>. Acessado em 21 de junho de 2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542010000500028>.

REBOUÇAS, M.C. et al. Caracterização do concentrado protéico de peixe obtido a partir dos resíduos da filetagem de tilápia do Nilo. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 33, p. 697-704. 2012. Disponível em:< <http://www.repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/90552/1/2-s2.0-84862325002.pdf>>. Acessado em 20 de junho de 2017. doi: <http://DOI:10.5433/1679-0359.2012v33n2p697>.

SAS Institute. SAS User's guide: statistics. **Version 9.1.3**. Cary, N.C., 2005.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise De Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. 3.Ed. Viçosa, MG: Universidade Federal De Viçosa,235p., 2002.

SILVA, M. C. *et al.* Avaliação do processo de obtenção de um isolado protéico desenvolvido a partir de pescado de baixo valor comercial In: SEAFOOD 2006 - INOVAÇÕES TECNOLÓGICAS E VALOR AGREGADO NA TECNOLOGIA DO PESCADO: PESQUISAS BRASILEIRAS, 2006, São Paulo - SP. **Resumos...** São Paulo, 2006.

SOUZA, M.L.R. *et al.* Formulation of fish waste meal for human nutrition. **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, v. 39, suppl., p. 525-531, 2017. Disponível em:< file:///C:/Users/User/Downloads/29723-180513-3-PB.pdf>. Acessado em 20/10/2017. doi:10.4025/actascitechnol.v39i5.29723.

SOUCI, S. W. *et al.* **Foods Composition and Nutrition Tables**. Med pharm Scientific Publishers. 2000. 141p.

STEVANATO, F. B. *et al.* Fatty acids and nutrients in the flour made from tilápia (*Oreochromis niloticus*) heads. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p. 0101-2061. 2008. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0101-20612008000200027>. Acessada em 20 de junho 2017. doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000200027.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4ed. revisada e ampliada. Campinas, SP: UNICAMP, 2011. Disponível em:<http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco\_4\_edicao\_ampliada\_e\_revisada.pdf?arquivo=ta\_co\_4\_versao\_ampliada\_e\_revisada.pdf>. Acessado em 01 de junho de 2017.

VIDAL, J. M. A. *et al.* Concentrado proteico de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização físico-química e aceitação sensorial. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, p. 92-99, 2011. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1806-66902011000100012>. Acessado em 16 de junho de 2017. doi: http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902011000100012.

VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, G. S. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal. **Instituto de Pesca**. 2006. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/producao\_caracterizacao.pdf>. Acesso em: 16 julho 2017.

VIGNESH, R.; SRINIVASAN, M. Nutritional quality of processed head and bone flours of Tilápia (*Oreochromis mossambicus*, Peters 1852) from Parangipettai estuary, South East Coast of India. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.2, p.S368-S372. 2012. Disponível em:< http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169112601890>. Acessado em 22 de junho de 2017. doi: http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60189-0.

WHO & FAO-World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations Joint Expert Consultation Report, 1995: Fats and oils in human nutrition. **Nutritional Review**, v.53, n.7, p.202-205, 1995.

#### **IV. Caracterização e Vida de prateleira de farinhas de CMS de tilápia do Nilo estabilizadas com diferentes antioxidantes**

(Formatado de acordo com a Revista Acta Scientiarum technology)

**RESUMO.** O presente estudo objetivou caracterizar e comparar a vida de prateleira de farinhas de CMS de tilápia do Nilo estabilizadas com diferentes antioxidantes. Utilizou-se como tratamento farinhas estabilizadas com BHT (200 mg kg<sup>-1</sup>), chá-verde e resveratrol nos níveis de 0,02, 0,06 e 0,1 % e sem antioxidante. Avaliou-se, a composição nutricional e microbiológica, a oxidação lipídica, e as características físicas das farinhas, durante teste acelerado de vida de prateleira em estufa a 60°C. A composição centesimal da farinha de CMS não foi alterada durante a vida de prateleira, indicando valores de 8,51%, 74,84%, 12,61% e 4,04%, para a umidade, proteína, lipídios e minerais, respectivamente. A farinha de CMS é rica nos minerais, cálcio (2,78%), fósforo (1,24%) e ferro (72,11mg.100g<sup>-1</sup>), nos ácidos graxos insaturados, docosahexaenoico (DHA),  $\alpha$ -linolênico (LNA) e o  $\gamma$ -linolênico (GLA). A colorimetria das farinhas, não foi influenciada pelos tratamentos ou pelo tempo em estufa ( $p > 0,05$ ), obtendo médias para o componente L\* de 52,07, a\* de 4,67 e b\* de 8,89. O pH (7,2) e a atividade de água (0,375) diminuíram durante a vida de prateleira, chegando a valores de 7,2 e 0,309 em 240h. Não houve diferença para o índice de peróxido e para o TBARS, entre o tratamento controle e os antioxidantes testados em nenhuma das concentrações, durante o teste em estufa a 60°C, cujos valores mínimos e máximos obtidos foram de 10 e 45 meq kg<sup>-1</sup> e 1,59 a 2,95 mg MDA kg<sup>-1</sup>. O BHT foi mais eficiente no controle da oxidação das farinhas em relação aos antioxidantes naturais. Concluindo que a farinha de CMS possui elevado valor nutricional e qualidade microbiológica para o consumo humano. O BHT é mais eficiente em retardar a oxidação lipídica da farinha de CMS de tilápia do Nilo que os antioxidantes naturais testados.

**Palavra-chave:** antioxidantes naturais, estabilidade oxidativa, farinha de peixe.

#### **Characterization and shelf-life of Nile tilapia CMS flours stabilized with different antioxidants**

**ABSTRACT.** The present study aimed to characterize and compare the shelf-life of Nile tilapia CMS flours stabilized with different antioxidants. Flour stabilized with BHT (200 mg.kg<sup>-1</sup>), green tea and resveratrol at 0.02, 0.06 and 0.1% concentrations and without antioxidant were used as treatment. The nutritional and microbiological composition, the lipid oxidation, and the physical characteristics of the flours were evaluated during an accelerated shelf-life test at 60°C. The centesimal composition of CMS flour did not change during the shelf-life indicating values of 8.51%, 74.84%, 12.61% and 4.04% for moisture, protein, lipids and minerals, respectively. CMS flour is rich in minerals, calcium (2.78%), phosphorus (1.24%) and iron (72.11mg.100g<sup>-1</sup>), unsaturated fatty acids, docosahexaenoic (DHA),  $\alpha$ -linolenic acid (LNA) and  $\gamma$ -linolenic acid (GLA). Flour colorimetry was not influenced by treatments or time in the oven ( $p > 0.05$ ), obtaining averages for the L\* component of 52.07, a\* of 4.67 and b\* of 8.89. The pH (7.2) and the water activity (0.375) decreased during the shelf-life, reaching values of 7.2 and 0.309 in 240h. There was no difference for the peroxide index and for the TBARS between the control treatment and the antioxidants tested at any of the concentrations during the 60°C oven test, whose minimum and maximum values were 10 and 45 meq kg<sup>-1</sup> and 1.59 to 2.95 mg MDA kg<sup>-1</sup>. The BHT was more efficient in the control of the oxidation of the

flour compared to the natural antioxidants. Concluding that CMS flour has high nutritional value and microbiological quality for human consumption. BHT is more efficient in delaying the lipid oxidation of Nile tilapia CMS flour than the natural antioxidants tested.

**Key words:** natural antioxidants, oxidative stability, fish meal.

## **Introdução**

Com o potencial produtivo do Brasil, as projeções indicam que, até 2020 a produção será em torno de 2 milhões de toneladas de acordo com o Ministério da Pesca e Aquicultura (Brasil, 2016). Favorecendo o setor pesqueiro e evidenciando problemas com os resíduos, que representam cerca de 2/3 do volume da matéria-prima da indústria. A tilápia é a espécie mais expressiva no mercado, representando 45% de todo pescado produzido no Brasil (FAO, 2016), e durante seu processamento de filetagem, são gerados até 72% de resíduos (Kubitza, 2006). Dentro do cenário produtivo esperado, em 2025, serão produzidas 1,9 milhões de toneladas de tilápia, (FAO, 2016), sendo necessárias a utilização de práticas eficientes de gerenciamento de resíduos.

A filetagem é o principal processamento da tilápia, porém como esta espécie tem baixo rendimento, cerca de 14% (peso vivo) de carne fica retida no esqueleto. Até 60% desta carne pode ser retirada por meio de máquina despulpadora (Freitas et al., 2012), e utilizada pela indústria na produção de outros produtos de maior valor agregado, como, “fishburgers” (Marengoni et al., 2009), almôndegas (Oliveira et al., 2012), patês (Freitas et al., 2012) e farinha de alto valor biológico para consumo humano (Costa et al., 2016). Possibilitando a utilização integral destes resíduos na fabricação de subprodutos, melhorando a sustentabilidade da cadeia produtiva.

Apesar do valor nutricional da farinha de peixe (Costa et al., 2016; Rebouças et al., 2012; Vidal et al., 2011), sua elaboração exige habilidades do setor que permitam o seu processamento, para manter a padronização na composição nutricional, reduzir os níveis de contaminação e a oxidação lipídica e proteica deste subproduto, que são os principais problemas verificados na farinha de peixe ou farinha de piracuí comercializada atualmente.

A oxidação de lipídios é um dos fatores que requer atenção durante o processo de fabricação das farinhas, pois limita a vida de prateleira, levando à alteração na qualidade sensorial (sabor, textura, aroma), nutricional por meio da degradação da fração lipídica e das vitaminas, além de formar produtos tóxicos (Choe & Min, 2006).

Contudo, a oxidação lipídica pode ser retardada com a utilização de antioxidantes. Atualmente os mais utilizados são o butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), galato de propila (PG) e *terc*-butil hidroquinona (TBHQ). Alguns estudos têm apontado estes produtos como carcinogênicos em potencial e seu uso tem sido substituído por substâncias naturais que apresentam potencial antioxidante como o extrato de chá verde e os tocoferóis (Ramalho & Jorge, 2006).

O fato é que mesmo fazendo uso de antioxidantes, as reações de oxidação podem apenas serem retardadas e não impedidas por tempo indeterminado, pois, os alimentos são compostos bioativos formados por moléculas reativas que estão em constante interação. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a vida de prateleira de farinhas de CMS de tilápia do Nilo estabilizadas com diferentes antioxidantes, sintéticos e naturais.

## **Material e Métodos**

### **Elaboração da farinha de carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia e delineamento experimental**

A farinha de carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia foi produzida no Laboratório de Tecnologia de Processamento de pescado da Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Maringá em Iguatemi-PR (FEI). A farinha foi elaborada a partir de resíduos da indústria de filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Smart Fish, localizada em Rolândia-PR. As carcaças (espinhaço com resíduo remanescente de filetagem e nadadeiras) utilizadas foram preparadas removendo-se a cabeça, as nadadeiras, o excesso de gordura e os resquícios viscerais. As matérias-primas (carcaça limpa) foram sanitizadas por imersão em solução com Peroxitane<sup>®</sup> 1512 AL (à base de ácido peracético, peróxido de hidrogênio, ácido acético e água) na concentração de 0,1 mg kg<sup>-1</sup>, por dez minutos, e submetidas a máquina de despolar para a obtenção da CMS.

O volume total de CMS foi dividido em lotes de 5 kg por tratamento (n=3). Individualmente cada tratamento foi cozido sob pressão por 40min a 100°C, em solução de razão 1:1 do resíduo cárneo e água. Após o cozimento, procedeu-se a etapa de estabilização das farinhas. Esperou-se que a temperatura da massa fosse reduzida para 90°C e o antioxidante foi adicionado de acordo com os tratamentos, permanecendo em infusão por 20 minutos. Os tratamentos testados foram farinha sem a utilização de antioxidante (controle negativo), farinhas estabilizadas com chá-verde (Matchá Gourmet da Grings<sup>®</sup>) e o resveratrol (Resveratrol 98%, extrato em pó fornecido comercialmente

pela Via Farma<sup>®</sup>) nas concentrações de 200, 600 e 1000 ppm, e com o antioxidante sintético BHT 200 mg kg<sup>-1</sup> (2,6-diterc-butil-p-cresol, BHT ACS 99,8%, Labsynth Brasil<sup>®</sup>). Após este período o conteúdo foi prensado, em prensa hidráulica com capacidade 10 toneladas para a extração do excesso de água e óleo, a torta de prensa foi moída em moinho de carne e desidratada em estufa com circulação forçada de ar para secagem a 55°C, por 24 horas. O material desidratado foi submetido a uma nova moagem em moinho tipo faca para a obtenção da farinha.

As farinhas foram acondicionadas em potes plásticos de polipropileno com tampa e identificadas de acordo com cada tratamento e repetição (n=3) e encaminhadas para o teste de vida de prateleira. Amostras de farinha estabilizada com BHT foram mantidas em temperatura ambiente para controle da oxidação por 150 dias.

O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso (DIC) em esquema fatorial (2 x 3) + 2 com medidas repetidas no tempo, ou seja, dois antioxidantes (chá-verde e resveratrol) em três níveis de inclusão (200, 600 e 1000 ppm), e dois controles (negativo, farinha sem antioxidantes e positivo, farinha com o antioxidante de uso padrão pela indústria o BHT).

### **Estudo de vida de prateleira das farinhas de CMS de tilápia**

Para avaliar a estabilidade oxidativa da farinha de CMS com antioxidantes naturais, foi realizado a vida de prateleira por meio do Teste de Estufa de Schaal (Antolovich et al., 2002), e as amostras foram mantidas em estufa de ventilação forçada de ar a 60 °C, por 10 dias, totalizando 240 horas. As triplicatas foram distribuídas aleatoriamente na estufa, homogeneizadas e realocadas diariamente para maior uniformidade. A coleta de amostras foi realizada a cada 2 dias de estufa, iniciando imediatamente a alocação das amostras em estufa, totalizando seis períodos de coletas. Para o acompanhamento da forma acelerada da oxidação do produto durante a vida de prateleira, o Índice de peróxido (IP) e as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram quantificados. Para tanto, durante o ensaio (60°C por 240h), foram coletadas periodicamente, a contar do tempo 0, amostras a cada 48h, totalizando 6 tempos de coleta (0, 48, 96, 144, 192 e 240h) e o IP ou a quantificação do oxigênio ativo (miliequivalentes/1 kg de óleo), foi mensurada a partir do iodo liberado do iodeto de potássio pelos peróxidos presentes na amostra de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (1984). A quantificação das TBARS, foi realizada segundo método descrito por Buege e Aust (1978).

Durante este ensaio também foram verificadas o pH, a Aw, a composição centesimal, a qualidade microbiológica, a textura e a cor das farinhas.

### **Capacidade antioxidante do Chá-verde e do Resveratrol**

Antes da utilização do chá-verde e do resveratrol na estabilização das farinhas, estes tiveram sua capacidade antioxidante avaliada.

Os compostos fenólicos totais do chá-verde liofilizado, foram determinados seguindo o método de espectrofotométrico, adaptado de Singleton e Rossi (1965). Uma alíquota de 0,1 g do respectivo chá-verde liofilizado foi transferida para tubos de ensaio e adicionados 10 mL de água deionizada (1:10), para o preparo da solução extratora. Desta solução, foram recuperados 125 µL e acrescido 125 µL de Folin 50% e 2250 µL de Carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), após homogeneizado e encubado durante 30 minutos no escuro, seguido pela leitura em espectrofotômetro a 725 nm. O padrão utilizado foi ácido gálico e os resultados foram expressos em mg.g<sup>-1</sup> (equivalentes de ácido gálico), sendo esta análise realizada em duplicata. Para o resveratrol, admitiu-se os níveis de garantia fornecido pelo fabricante (98% de pureza). Os resultados desta análise foram utilizados para padronizar a concentração de antioxidantes presentes nas doses testadas (200, 600 e 1000ppm)

Para quantificação do potencial antioxidante do chá-verde e do resveratrol, foram preparados extratos etanólico, alcoólico e aquoso. Estes extratos foram utilizados na identificação da capacidade antioxidante pelo método do sequestro de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) de acordo com a metodologia descrita por Borguini (2006). O extrato foi dissolvido em metanol e realizadas diluições seriadas. Transferiu-se uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio e acrescentou-se 3,9 mL da solução estoque de DPPH, até completa homogeneização; ao branco, adicionou-se apenas álcool metílico absoluto, em outro tubo, DPPH e 0,1 mL de álcool metílico. O padrão de comparação utilizado na análise foi o BHT a 200ppm. Realizou-se a leitura no espectrofotômetro em 517 nm de comprimento de onda. Foram calculadas as médias dos valores obtidos e a partir delas, obteve-se o potencial antioxidante por meio da fórmula:

$$\% \text{ antioxidante} = [(Abs \text{ amostra} - Abs \text{ Branco da amostra}) / Abs \text{ Branco ensaio}] \times 100$$

Em que:



Abs amostra = absorbância da amostra a 517 nm;

Abs branco da amostra = absorbância do branco da amostra a 517 nm;

Abs branco do ensaio DPPH = absorbância do branco do ensaio DPPH a 517 nm

### **Análises microbiológicas das farinhas**

Imediatamente a elaboração da farinha de CMS de tilápia foram realizadas no laboratório de Microbiologia e Microscopia de Alimentos, do Departamento de Análises clínicas na Universidade Estadual de Maringá – UEM, análises para o número mais provável (NMP) de coliformes (35°C e a 45°C), contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva (UFC/grama) e de *Salmonella spp*, de acordo com Apha (1992). O protocolo microbiológico seguiu os padrões recomendados pela Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2001).

### **Propriedades químicas e físicas das farinhas**

As análises físicas e químicas foram realizadas no laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal da Universidade Estadual de Maringá (LANA – UEM).

Antes de serem submetidas ao teste de estufa as farinhas foram avaliadas quanto a sua composição centesimal (umidade e cinzas) de acordo com a metodologia da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). Os teores de proteína bruta foram avaliados pelo método de semimicro Kjeldahl (Silva & Queiroz, 2002). A extração e quantificação de lipídeos totais das farinhas foram realizadas pela metodologia descrita por Bligh & Dyer, (1959). A partir do conteúdo desta extração foi realizada a determinação do perfil de ácidos graxos por meio da transesterificação do resíduo lipídico das farinhas, de acordo com a metodologia ISO (1978).

Os carboidratos foram estimados por uma fórmula matemática que considera a soma dos valores de umidade, proteína, lipídeos e cinzas subtraídos de 100% (Brasil, 2003). O valor calórico total foi obtido pela soma da multiplicação dos valores das médias de proteína (4), lipídios (9) e carboidratos (4) (Souci et al., 2000).

A quantificação dos minerais cálcio ferro e fósforo foram realizadas de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (2005).

O pH foi aferido por meio de pHmetro digital (DM 22, Digimed, São Paulo, Brasil), e a amostra homogeneizada com água destilada (1:10 amostra/água) foi submetida ao eletrodo (DM 22, Digimed, São Paulo, Brasil) por 5 minutos (Instituto Adolfo Lutz, 1985).

A atividade de água das amostras foi verificada utilizando o aparelho da marca Aw Sprint – Novasina TH-500.

A granulometria das farinhas foi realizada pela metodologia descrita por Brasil (2009), e uma fração de 100 gramas de cada amostra foi depositada em um sistema de peneiras sobrepostas e submetida à agitação por 10min, para obtenção de material retido em cada peneira. Cujos resultados foram expressos em percentagem.

A colorimetria foi realizada utilizando um colorímetro digital (MINOLTA modelo CR-10; Minolta Camera Co., Osaka, Japan), com leitura sob ângulo de 90°, e temperatura e luminosidade ambiente, e os parâmetros de leitura avaliados correspondem a: L\* (luminosidade L\*= 0 preto e L\*=100 branco), a\* (componente vermelho-verde) e b\* (componente amarelo-azul).

As variáveis, pH, atividade de água e colorimetria das farinhas estabilizadas com três níveis de resveratrol e chá-verde, e os controles positivo e negativo, foram avaliadas em dois momentos, no tempo 0 (dia 1 - início dos ensaios) e no 10° dia para o ensaio em estufa.

### **Análise estatística**

Os valores médios referentes a microbiologia, composição nutricional, perfil lipídico da farinha de CMS de tilápia foram apresentados de forma descritiva.

Os dados de pH, Aw, cor, textura, IP e TBARS obtidos para os tratamentos contendo resveratrol e chá-verde em seus respectivos níveis foram comparados com o controle negativo (farinha sem antioxidante) e com o controle positivo (farinha com BHT 0,02 mg.kg<sup>-1</sup>) por meio do teste de Tukey (5%).

Para os valores médios das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e do Índice de peróxido (IP) considerando cada fonte antioxidante e os níveis de inclusão foi realizada análise de regressão de acordo com os tempos de coleta (0, 48, 96, 144, 192, 240h) ao longo dos 10 dias de ensaio.

Por meio das equações de regressão obtidas para o comportamento do IP no ensaio em estufa e em temperatura ambiente foi possível gerar um gráfico de regressão relacionando os dois ambientes, predizendo a equivalência entre as horas de estufa e os dias em temperatura ambiente para um determinado valor de IP.

As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico SAS (2005), sendo realizados teste de médias e análises de regressão quando apropriado.

## Resultados e discussão

As análises de microbiologia, composição centesimal, granulometria e a capacidade antioxidante foram realizadas apenas com a finalidade de caracterizar as farinhas.

O valor de polifenóis extraído do chá verde liofilizado foi de 49,30 mg EAG/g chá, sendo que o principal polifenol encontrado neste composto são as catequinas, que são caracterizadas como um composto incolor solúvel em água que confere amargor e adstringência, e constituem cerca de 15 a 30% do peso das folhas secas do chá-verde (Amidor, 2009). Para o resveratrol, utilizou-se os níveis de garantia fornecido pelo fabricante (98%), por se tratar de um produto de uso comercial (Farmácia de manipulação). De acordo com o potencial de inibição da oxidação por meio do radical DPPH, pode-se verificar valores de inibição de 95% para o chá-verde, 93% para o resveratrol e 90% para o BHT. Indicando que os antioxidantes naturais utilizados para estabilizar as farinhas, estavam viáveis e apresentavam potencial antioxidante comparado ao padrão BHT.

De acordo com os resultados das análises microbiológicas as farinhas de CMS de tilápia estabilizadas com diferentes antioxidantes, estavam dentro dos padrões sugeridos pelo Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos estabelecido pela Resolução RDC n.º 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) que preconiza, ausência de *Salmonella* ssp. em 25g de amostra, tolerância máxima de  $5 \times 10^2$  UFC/g para *Staphylococcus coagulase* positiva e  $5 \times 10^3$  NNP/g para coliformes a 45 °C, em alimentos, pois, obteve-se contagem inferior a  $3 \times 10^3$  para Coliformes a 35°C e a 45°C (NMP/g <  $3 \times 10^3$ ), estafilococos menor  $1 \times 10^2$  (UFC/g) e ausência de *Salmonella* ssp.. Indicando que a farinha de CMS, apresenta boa qualidade higiênico sanitárias, estando apta para o consumo humano.

Embora para cada tratamento, tenha se preparado lotes independentes de farinha de CMS para possibilitar a utilização dos antioxidantes (tratamentos), não se observou variações consideráveis no perfil nutricional, dos lotes de farinha de peixe avaliados. Assim como, a adição de antioxidantes não interferiu quantitativamente em seus componentes.

A umidade da farinha de CMS manteve valor médio de  $\pm 8,51\%$  (Tabela 1), este valor está de acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de origem animal (Brasil, 1997), que descreve que o pescado seco íntegro não deve conter

mais que 12% de umidade. Como, a farinha de peixe para consumo humano não é um produto comercial que exista no mercado, não existe uma legislação específica para se basear.

**Tabela 1.** Valores médios de composição centesimal, minerais (Ca, Fe e P) e perfil lipídico das farinhas CMS de tilápia estabilizadas com diferentes níveis de antioxidantes naturais (chá-verde e resveratrol), sem antioxidante (Controle -) e com BHT (Controle +). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

Nutrientes (%)**	Farinhas de CMS*	
	Médias	SD
Matéria seca	91,49	$\pm 0,73$
Umidade	8,51	$\pm 0,73$
Proteína Bruta	74,84	$\pm 1,05$
Gorduras	12,61	$\pm 1,44$
Cinzas	4,04	$\pm 0,12$
Minerais		
Cálcio (%)	2,78	$\pm 0,12$
Fósforo (%)	1,24	$\pm 1,02$
Ferro (mg.100g <sup>-1</sup> )	72,11	$\pm 1,42$
Ácidos graxos		% dos lipídeos totais
Ácido Mirístico (C14:0)	2,34	-
Ácido Palmítico (C16:0)	26,52	-
Ácido Palmitoleico (C16:1)	1,10	-
Ácido Esteárico (C18:0)	5,64	-
Ácido Oleico (C18:1n9c)	38,33	-
Ácido Linoleico (C18:2n6c)	17,67	-
Ácido Gama-Linolênico GLA (C18:3n6)	0,87	-
Ácido Alfa Linolenico LNA (C18:3n3)	1,65	-
Ácido Cis-11-Eicosenoico (C20:1n9)	2,44	-
Ácido cis-8,11,14-Eicosatrienoico (C20:3n6)	0,05	-
Ácido Araquidônico AA (C20:4n6)	1,47	-
Ácido Nervônico (C24:1n9)	1,08	-
Ácido Docosahexaenoico DHA(C22:6n3)	0,84	-
Gordura Monoinsaturada	42,95	-
Gordura Poli-insaturada	22,63	-
Gorduras Insaturadas	65,58	-
Gorduras Saturadas	34,60	-
Gorduras Trans	0	-
Ômega 3	2,49	-
Ômega 6	20,05	-
Ômega 9	41,84	-
Ômega 3/ Ômega 6	8:1	

\*Média aritmética entre os 5 lotes referente a cada um dos tratamentos, sendo eles, farinha sem antioxidante, com BHT, com 3 concentrações de chá-verde e com 3 concentrações de resveratrol. \*\* Valores de carboidratos < 1%. AGS = ácidos graxos saturados; AGMI = ácidos graxos monoinsaturados; AGPI = ácidos graxos poli-insaturados; n-3 = ômega 3; n-6 = ômega 6.

De maneira geral, a farinha de CMS possui elevado valor nutricional, pois, possui em média 75% de proteína, 13% de gordura e 4% de minerais (Tabela 1). Por ser um produto oriundo do pescado, além do elevado teor de proteína, é possível que esta farinha apresente elevado valor biológico pela sua riqueza em aminoácidos e digestibilidade satisfatória (Cho & Kim, 2011).

Em relação ao conteúdo mineral, a farinha de CMS, é uma boa fonte de cálcio, pois embora no processo de separação, a máquina despulpadora remova grande parte da carne dos ossos (espinhas), sendo estes descartados, o conteúdo de cálcio circulante na musculatura tem boa representatividade. Assim como, a farinha de CMS também pode fornecer boa quantidade de fósforo (1,3%) e de ferro (72 mg.100g<sup>-1</sup>), além de outros minerais que não foram quantificados (Tabela 1).

A farinha de CMS, é uma boa fonte de gordura, uma vez que não foram detectadas a presença de gorduras trans e houve predominância (>60%) de gorduras insaturadas, com prevalência de ácidos graxos monoinsaturados (Tabela 1). Formas importantes de ômega-3 e ômega-6 foram detectadas, como o  $\alpha$ -linoleico (LA), docosahexaenoico (DHA), o  $\alpha$ -linolênico (ALA) e o  $\gamma$ -linolênico (GLA). Estes ácidos graxos poli-insaturados (n3, n6 e n9), são importantes para o controle e prevenção de doença. Embora tenha sido constatada a presença de ácidos graxos da série ômega 3 (n-3), estes representaram menos de 1% dos ácidos graxos totais, e acarreta em uma relação n-6/n-3 desfavorável, pois de acordo com a Food and Agriculture Organization (FAO) o ideal é que se mantenha a relação entre 5-10:1, e no presente estudo se obteve a relação de 8:1 (Who & Fao, 1995).

Embora este valor esteja dentro das recomendações da FAO, é superior as recomendações estabelecidas por autores e órgãos de saúde de diferentes países como Alemanha e Suécia que estabeleceram a razão 5:1, e do Japão, recomendação mais rigorosa, sendo de 4:1 para adultos saudáveis, e de 2:1 para a prevenção de doenças crônicas em idosos (Martin et al., 2006).

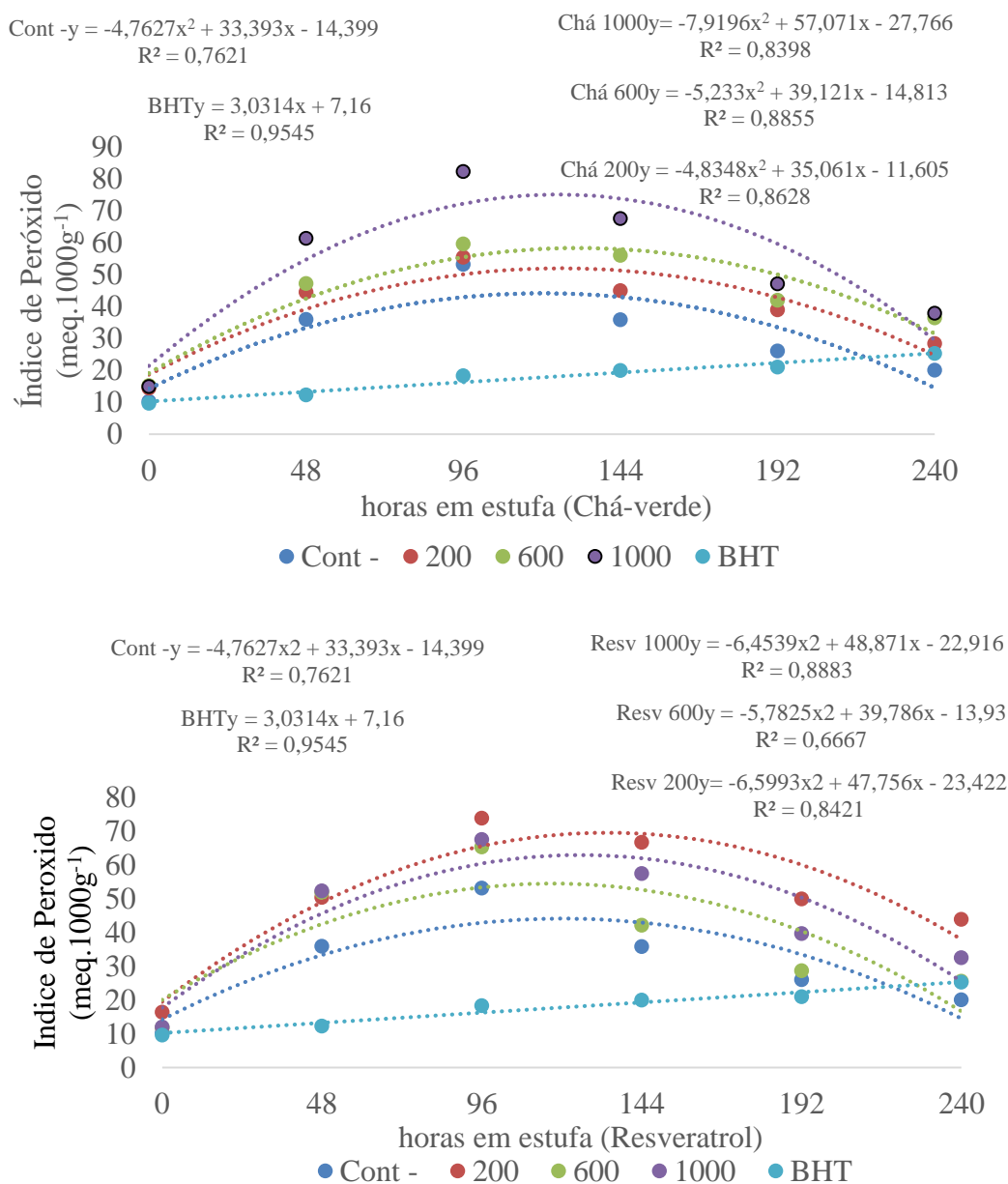
Os valores nutricionais da farinha de CMS de Tilápia do presente estudo (Tabela 1), corroboram com os obtidos por Rebouças et al. (2012) que ao trabalharem na caracterização do concentrado proteico de peixe obtido a partir dos resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (Farinha de CMS), relataram elevado teor de proteína (85%) e gordura (8,20%), e baixo valor de minerais (2,45%).

Os valores relatados por Vidal et al. (2011) também se assemelham ao presente estudo (Tabela 1) para o conteúdo proteico (62,39%) e mineral (2,26%), contudo, os valores referentes ao teor de gordura foram muito superiores, por volta de 30%.

Definitivamente o que se pode dizer é que a farinha de CMS, contém elevado teor proteico e diminuto conteúdo mineral. Porém, pode-se encontrar na literatura (Rebouças et al., 2012; Vidal et al., 2011) com maior frequência divergência no conteúdo lipídico dessas farinhas, devido ao tipo de peixe utilizado e ao método de fabricação, que pode envolver sucessivas lavagens e deslipidificação que acaba por influenciar também na umidade e no conteúdo mineral que já é baixo, pois, durante a lavagem do CMS em torno de 67% dos minerais podem se lixiviados (Gryschek et al., 2003).

A avaliação do Diâmetro Granulométrico Médio constatou que a farinha de CMS avaliada possuía grânulos com valor médio de 0,90 mm. Cujo perfil de distribuição de partículas se mostrou homogêneo, pois 91,06% das partículas eram de padrão médio (PM), sendo apenas 6,76% de partículas finas (PF) e 2,18% partículas grossas (PG).

Durante o teste de estabilidade oxidativa em vida de prateleira pode-se verificar por meio dos índices de peróxido obtidos maior estabilidade para as farinhas estabilizadas com BHT ( $p < 0,05$ ), não havendo diferença significativa entre o controle negativo, ou seja, sem o uso de antioxidante e os antioxidantes naturais chá-verde (Figura 1a) e resveratrol (Figura 2b), independente das concentrações testadas (200, 600 e 1000 mg.kg<sup>-1</sup>). Considerando que ambos, os antioxidantes possuem potencial antioxidante verificados pelo DPPH, e que, no entanto, eles não foram eficientes em manter a estabilidade das farinhas, subentende-se que a interação entre o antioxidante e a amostra foi prejudicada por algum mecanismo, ou os polifenóis e os flavonoides existentes no chá-verde e no resveratrol, não foram capaz de se ligar a estrutura lipídica e impedir as reações de peroxidação ou; esta relação foi interrompida, por exemplo pelo uso da temperatura em estufa (60°C) durante a vida de prateleira uma vez que estes compostos são termolábeis. Durante a vida de prateleira, o índice de peróxido das farinhas foi avaliado sucessivamente a cada 48 horas por 240 horas. Contudo, já no início do ensaio em 0 horas, pode-se observar independente do tratamento, valores elevados de oxidação, pois o índice de peróxido parte de 10 mEq/1000g (Figura 1). Inferindo que ocorreu oxidação antes do período em estufa, ou seja, durante o processo de produção da farinha. Com o intuito de se proteger os antioxidantes naturais, do superaquecimento, a estabilização das farinhas só foi realizada na etapa final de cozimento, antes da etapa de prensagem.



**Figura 1.** Índice de Peróxido nas farinhas de CMS de tilápia estabilizadas com diferentes níveis de antioxidantes naturais, chá verde (a) e resveratrol (b), sem antioxidante (Controle -) e com 200 ppm de BHT durante a vida de prateleira.

No entanto, como os peixes são ricos em ácidos graxos insaturados e poli-insaturados, e possuem baixo teor de tocoferol, estes, assim como, seus derivados têm como característica baixa estabilidade e rápida oxidação da cadeia lipídica. A exposição a altas temperaturas ( $100^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) durante o processo de cozimento para elaboração das farinhas foi suficiente para promover a sua oxidação a níveis indesejáveis ao consumo. Portanto, quando se deu início a vida de prateleira as farinhas já não eram mais estáveis pois segundo Bellaver e Zanotto (2004), as gorduras para serem consideradas estáveis precisam ter 0 (zero) mEq de peróxido inicial/kg de gordura e apresentar valor menor do

que 20 mEq/kg de gordura em 20 horas de teste, e não ocorreu para a maioria das farinhas testadas, pois, somente o tratamento com BHT conseguiu manter o peróxido em 20 mEq.kg<sup>-1</sup> por até 96 horas (Figura 1). No entanto, o Codex Alimentarius preconiza que o índice de peróxido deve ser de no máximo 10 mEq.kg<sup>-1</sup> (Codex Alimentarius, 2003), o que indica que as farinhas estavam oxidadas.

Durante a vida de prateleira, observou-se que embora com índice de peróxido inicial superior a 10 mEq/kg, a farinha estabilizada com BHT, elevou gradativamente de forma linear os valores de peróxido ao longo do período (240h de estufa a 60°C), sendo este insuficiente para total oxidação da farinha, indicando que o BHT, retarda as reações oxidativas. Contudo, para as demais farinhas, observou-se um período de indução nas primeiras 96 horas de estufa, ocasionando um pico de produção de peróxido por volta de 116 horas de estufa obtendo valor médio de 45 mEq de oxigênio /kg. Seguido de período de declínio nos índices de peróxido. Este comportamento pode ser melhor observado por meio dos gráficos de regressão linear para o BHT e quadrática para as demais farinhas, expressos na Figura 1. O efeito quadrático observado para o controle e as farinhas com chá-verde e resveratrol (Figura 1) acontece, porque, no processo de oxidação, o índice de peróxidos atinge valor máximo e, em seguida, declina, pois, a temperatura acelera a formação de hidro peróxidos que se decompõem rapidamente dando origem a produtos secundários de oxidação.

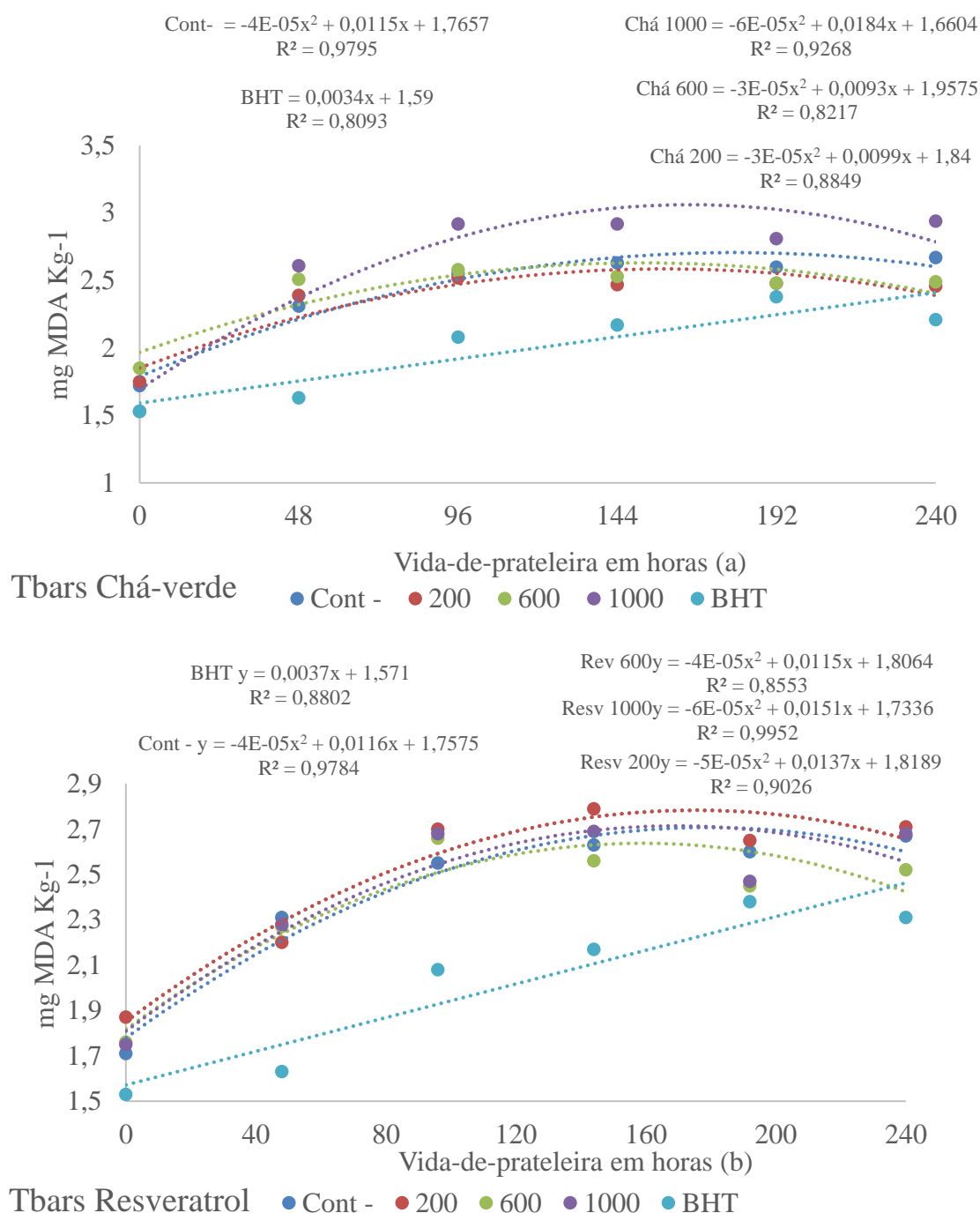
Os peróxidos são os compostos primários no processo de oxidação, gerados no início do processo e rapidamente decompostos. No entanto, os peróxidos são degradados em compostos secundários menores como os malonaldeído (MDA). Estes compostos foram quantificados pelo método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) durante a vida de prateleira e os resultados representados graficamente na Figura 2.

Os valores de MDA (Figura 2) confirmam os resultados obtidos pelo Índice peróxido, evidenciando maior estabilidade para as farinhas estabilizadas com BHT em relação aos demais tratamentos ( $p < 0,05$ ). Assim como, as farinhas sem antioxidantes, com chá-verde e resveratrol, independente da dose também não diferiram entre si para o conteúdo de MDA ao longo dos 240 dias de estufa, apresentando o mesmo comportamento ( $p > 0,05$ ).

Outra questão importante é que, assim como o IP, o conteúdo em MDA das farinhas já apresentavam um valor elevado no início da vida de prateleira (tempo 0) (Figura 2). Embora, não se tenha um padrão a ser seguido sobre a quantidade desta



substância presente em alimentos, vários autores sugerem que níveis elevados de MDA são prejudiciais à saúde (Silva et al., 2016; Terra et al., 2006; Velloso, 2004; Siqueira, 2001; Al-Kahtani et al., 1996).



**Figura 2.** TBARS em farinhas de CMS de tilápia estabilizadas com diferentes níveis de antioxidantes naturais, chá verde (a) e resveratrol (b), sem antioxidante (Controle -) e com de BHT durante a vida-de-prateleira.

No entanto, a literatura diverge, sobre um nível de seguridade, por exemplo, segundo Terra et al. (2006), valores de TBARS acima de 1,59 mg de aldeído malônico/kg

de amostra são prejudiciais à saúde. Utilizando-se este valor como referências os dados obtidos no presente estudo o superam já na primeira avaliação na vida de prateleira. Para Al-Kahtani et al. (1996) o pescado pode ser considerado bom para o consumo, quando apresentar valores abaixo de 3 mg de malonaldeído/kg de amostra, este valor colocaria todas as farinhas avaliadas durante a vida de prateleira dentro dos padrões, porém considerando que sua oxidação foi evidente, uma vez analisado o IP, os valores mínimos de 1,53 mg de malonaldeído observados no início (tempo 0h) e máximos de 2,95 mg de malonaldeído/amostra observados no final (tempo 240h) do ensaio (Figura 2), daria indicativo de valores elevados de oxidação e produção de compostos secundários

Estes resultados (Figura 2), estão de acordo com a afirmação de Ke et al. (1984) que ao estudarem valores de TBARS em várias espécies de pescado, concluíram que valores inferiores a 0,57mg de malonaldeído/kg indicam baixa taxa de rancidez, entre 0,65 e 1,44 os peixes podem ser considerados como levemente rançosos e valores superiores a 1,51, com ranço elevado.

Os resultados obtidos no presente estudo (Figura 2), diferem dos 1,2 a 1,6 mg MDA.kg<sup>-1</sup> (Silva et al., 2016), 0,36 mg MDA.kg<sup>-1</sup> (Siqueira, 2001), 0,14 mg MDA.kg<sup>-1</sup> (Velloso, 2004), 0,98 mg MDA.kg<sup>-1</sup>(Soccol et al., 2005) e os 0,405 mg MDA.kg<sup>-1</sup> (Teixeira, 2009) relatados por outros autores, durante a estocagem de amostras de filé de tilápia sob refrigeração. Contudo, a superioridade no conteúdo de MDA das farinhas de CMS pode estar relacionada ao fato de que os trabalhos supracitados se referem ao produto íntegro e *in-natura* (filés). O menor processamento e manipulação tende a manter as amostras mais estáveis, logo a farinha de CMS de tilápia, provém do aproveitamento dos resíduos de carcaças geradas durante o corte dos filés, estas carcaças são despulpadas e submetidas a alta temperatura para elaboração das farinhas, e favorece a oxidação. Estes processos promovem a interação, de enzimas intracelulares e minerais, que podem atuar como catalizadores, disponibilizados pela ruptura das fibras musculares, além de fornecer combustível para a oxidação, como, o oxigênio, aumentando a superfície de contato na matéria-prima e a temperatura durante o cozimento.

Os resultados apresentados por Fabrício et al. (2013), ajudam a sustentar esta teoria corroborando com os resultados apresentados no presente estudo, estes autores, ao avaliarem a estabilidade oxidativa de caldo de tilápia e pirambeba, moída e despulpada, obtiveram valores mais elevados de oxidação para o caldo oriundo de CMS. Cujos valores máximos já no início de estocagem foi de 1,21 e 1,67mg de aldeído malônico/ kg,

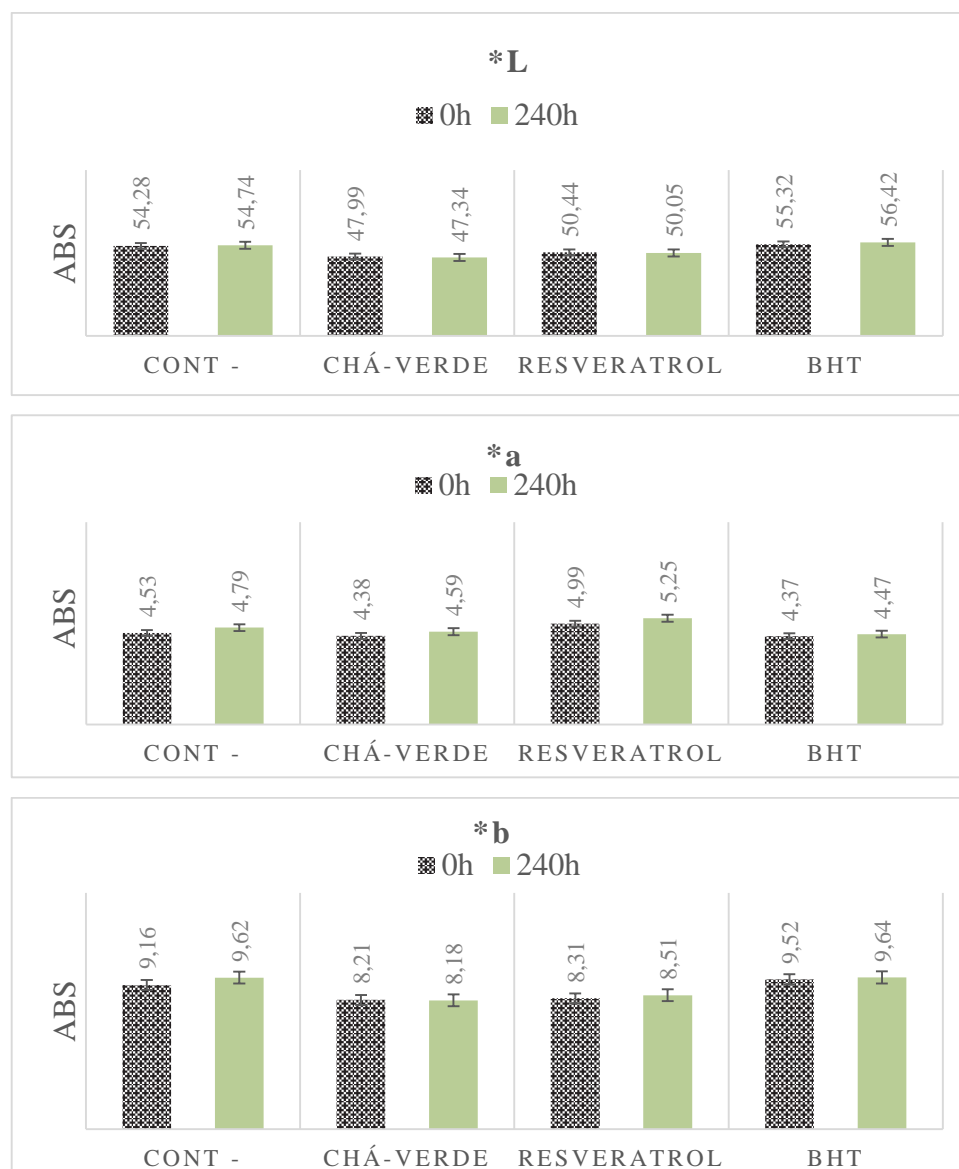
chegando a um valor final ao longo de 42 dias de 3,27 e 4,24mg de aldeído malônico, para as duas espécies, respectivamente.

Bertolin et al. (2011), relataram uma condição similar a encontrada para a farinha de tilápia, pois, estes autores notaram oxidação durante o processo de elaboração do pescado seco, quando as amostras iniciaram o processo de estocagem os valores de MDA já eram elevados, variando de 7,52 a 15,16 mg de malonaldeído/kg. Estes autores também verificaram maior estabilidade para os peixes estabilizados com BHT, e não obtiveram respostas significativas com dosagem de 500 a 1000 mg.kg<sup>-1</sup> de ficocianina, um antioxidante natural. No entanto, os valores de MDA obtidos no ensaio dos autores supracitados superam muito os valores de MDA na farinha de tilápia (Figura 2).

O perfil colorimétrico das farinhas foi verificado no início e no final da vida de prateleira, observando que os componentes de cromaticidade L\*, a\* e b\*, não variaram significativamente entre as diferentes farinhas, nem ao longo da vida de prateleira (Figura 3).

Portanto, as 240 horas de exposição em estufa a 60°C não influenciou na coloração das farinhas (Figura 3). O componente L\* (luminosidade ou brilho) obteve valor médio de 52,07. A coordenada de cromaticidade a\* (-60 = verde a +60 = vermelho), obteve valor médio de 4,67, indicando ausência da cor verde com leve tendência ao vermelho. Já a coordenada de cromaticidade b\*, que varia de (-60) azul até (+60) amarelo, mostrando tendência ao amarelo, apresentando média de (8,89).

Os valores relatados neste trabalho para a cor da farinha de CMS (Figura 3) estão de acordo com os obtidos por Costa et al. (2016) para os valores de L\* variando de 50,57 a 59,16, no entanto, estes autores encontraram maior tendência ao vermelho e ao amarelo (a\* 0,80 a 3,39 e b\* 12,03 a 14,24).



**Figura 3.** Perfil colorimétrico das farinhas de CMS de tilápia estabilizadas com diferentes antioxidantes naturais (chá verde e resveratrol), sem antioxidante (Controle -) e com 200 ppm de BHT no momento 0 e 240 horas após o início da vida de prateleira em estufa.

Não houve diferença significativa no pH e na  $A_w$  das farinhas entre as concentrações de chá-verde e resveratrol utilizadas na estabilização. Assim como, não houve interação entre o tempo e os tratamentos utilizados. No entanto, independente dos tratamentos analisados houve diferença significativa para a  $A_w$  entre os tempos estudados, indicando que independente do tratamento o tempo em estufa tende a diminuir a  $A_w$  das farinhas. Também se observou que independente do tempo a farinha estabilizada com BHT teve menor  $A_w$  (Tabela 2).

De acordo com os resultados do pH, houve interação entre os tratamentos e o tempo em estufa ( $p < 0,05$ ). Observando que o tempo em estufa influenciou no pH das

farinhas em relação aos tratamentos, no início da vida de prateleira (Tempo 0) as farinhas possuíam em média um pH de 7,2, sendo que o tratamento com resveratrol teve o pH mais elevado (7,3) em relação aos demais tratamentos. Após 240 horas de estufa o potencial hidrogênio das farinhas diminuiu significativamente para um valor médio de 6,9, oscilando entre os tratamentos, com maior valor para as farinhas estabilizadas com resveratrol (7,1) e menor valor para as farinhas que não foram estabilizadas (6,7). O pH das farinhas com chá-verde e BHT, não diferiram entre si (7,0) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Atividade de água ( $A_w$ ) e pH das farinhas de CMS de tilápia estabilizadas com diferentes níveis de antioxidantes naturais (chá verde e resveratrol), sem antioxidante (Controle -) e com 200 ppm de BHT no momento 0 e 240 horas após o início da vida de prateleira em estufa. Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

	Controle	Chá-verde	Resveratrol	BHT	Média*
<b><math>A_w</math></b>					
0h	0,453	0,378	0,410	0,311	0,375A
240h	0,379	0,312	0,356	0,234	0,309B
Média	0,370B	0,344AB	0,383B	0,273A	
CV%	14,25				
<b>pH</b>					
0h	7,0Ab	7,2Ab	7,3Aa	7,1Ab	7,2 A
240h	6,7Bc	7,0Bb	7,1Ba	6,9Bb	6,9 B
Média*	6,9C	7,1B	7,2A	7,0C	
CV%	0,73				

\* Letras maiúsculas distintas na linha e minúsculas nas colunas diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). CV, coeficiente de variação.

Os valores de umidade, pH e  $A_w$  obtidos no presente estudo indicam que as farinhas têm boa estabilidade microbiológica e enzimática, pois, apresentam  $A_w$  inferior a 0,60, zona limítrofe em que se tem pouco ou nenhum crescimento de microrganismos.

A qualidade microbiológica, a umidade, a  $A_w$  e o pH são fatores relevantes na manutenção da qualidade dos alimentos. O pH elevado associado a alta atividade água pode favorecer a proliferação de micro-organismos como a *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *E. Coli*, *Shigella*, *Clostridium*, *S. Aureus* (IANFES, 1991). Desta forma, os valores de umidade (Tabela 1),  $A_w$  e o pH (Tabela 2) das farinhas obtidas neste trabalho estão dentro do esperado para que suas características sensoriais e nutritivas não sejam afetadas.

Utilizando-se as equações de regressão obtidas para o comportamento do IP durante o ensaio em estufa e o armazenamento em temperatura ambiente foi possível relacionar o IP da amostra controle armazenada em temperatura ambiente e na estufa.

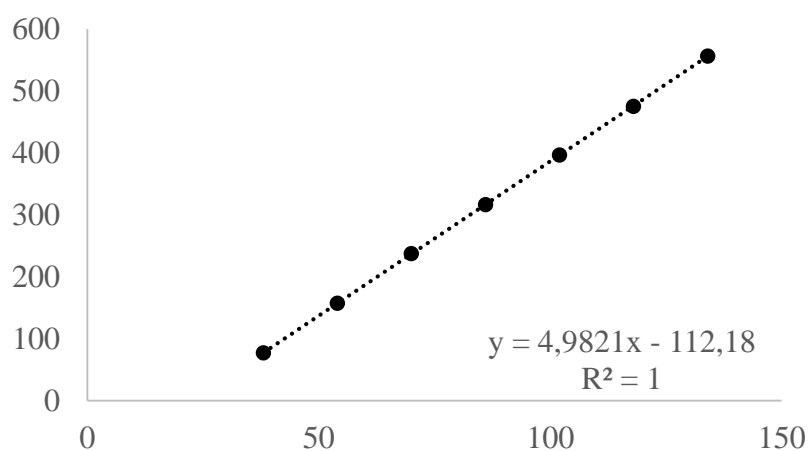
Estimando-se o tempo dias a temperatura ambiente e em horas a 60°C, suficientes para se atingir um IP pré-determinado (Tabela 3).

**Tabela 3.** Dados comparativos, entre o tempo em dias a temperatura ambiente e em horas a 60°C, suficientes para a farinha estabilizada com BHT atingir um Índice de peróxido (IP) pré-determinado.

IP mEq.Kg <sup>-1</sup>	Tempo	
	Dias** Temperatura ambiente	Horas* a 60°C
15	38	77
20	54	157
25	70	237
30	86	316
35	102	396
40	118	475
45	134	556

\*Equação de predição do índice de peróxido em estufa,  $y=3,0314x+7,16$ ,  $R^2 = 0,9545$ . \*\*Equação de predição do índice de peróxido em ambiente,  $y=0,312x+3,3048$ ,  $R^2 = 90$

Por meio dos dados obtidos na Tabela 3, é possível prever o momento em que a farinha de CMS avaliada no presente estudo atinge um determinado IP, tanto em ambiente quanto em estufa. A relação entre estes dados encontra-se expressa na Figura 4.



**Figura 4.** Relação do tempo em dias a temperatura ambiente e em horas a 60°C para a obtenção dos valores do Índice de peróxido previsto pelas farinhas de CMS.

De acordo com os resultados (Figura 4), o tempo necessário para obtenção da máxima oxidação/produção de IP nas farinhas que foi de 45 mEq/kg serão necessários 124 dias em temperatura ambiente e apenas 164 horas de estufa a 60°C.

A utilização de antioxidantes naturais tem apresentado bons resultados na estabilização de produtos alimentícios, alimentando expectativas de serem sucessores eficientes dos antioxidantes sintéticos como o BHT, contudo, no presente estudo os antioxidantes testados não foram eficientes, considerando seu potencial radical verificado

no início do estudo pelo método de DPPH, sugere-se novas pesquisas sobre a forma de utilização destes em farinha, dose, e a vida de prateleira.

O pescado, assim como seus derivados (CMS e farinha) é um alimento sensível as reações oxidativas de rápida deterioração, durante o processamento medidas de controle de oxidação devem ser tomadas desde as primeiras etapas a fim de se evitar produtos oxidados e impróprios.

## Conclusão

A farinha de CMS possui elevado, valor nutricional com conteúdo proteico superior a 75%. Sendo rica em ácidos graxos insaturados (docosahexaenoico, DHA,  $\alpha$ -linolênico, LNA e o  $\gamma$ -linolênico, GLA). Fonte de minerais como o cálcio (2,78%), fósforo (1,24%) e o ferro (72,11mg.100g<sup>-1</sup>). Possuindo relação ômega 6/ômega 3 de 7:1, dentro dos padrões estipulados pela FAO. Padrão colorimétrico de luminosidade média (L\* 55), com leve tendência ao amarelo (a\*=4,67) e ao vermelho (b\*= 8,89) e diâmetro granulométrico médio de 0,9mm.

A farinha de CMS se mostrou um produto instável, não sendo os antioxidantes naturais eficientes no controle da oxidação lipídica durante a vida de prateleira. O antioxidante BHT retarda o processo oxidativo na farinha de CMS, devendo este ser utilizado já nas primeiras etapas de elaboração da mesma.

## Referências

- Al-Kahtani, H. A., Abu-Tarboush, H. M., Bajaber, A. S. 1996. Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in Tilápia and Spanish mackerel. *Journal of Food Science*, 61(4), 729-733.
- Amidor, T. (2009). Wholesome green tea. Food product design July 27, 2009. *Food product design*. Disponível em: <<http://www.foodproductdesign.com/articles/2009/07/wholesome-green-tea.aspx>>. Acesso em: 08/2017).
- Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127, 183-198.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry*. 12 ed. Washington, 1995. 1090p.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists*. 18. ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.

- AOAC. Association Of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 14. ed. Washington, DC: AOAC International, 1984. 1141 p.
- APHA. American Public Health Association. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3. ed. Washington: 15 APHA, 1992.
- Bellaver, C. Zanotto, D. L. Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos proteicos de origem animal. *Palestra apresentada na Conferencia APINCO*. 2004. Santos SP. Disponível em: <[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/parametros\\_qualidade\\_gorduras\\_e\\_subprodutos\\_proteicos\\_de\\_origem\\_animal\\_000fyrf0t6n02wx5ok0pvo4k33hlhtkv.pdf](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/parametros_qualidade_gorduras_e_subprodutos_proteicos_de_origem_animal_000fyrf0t6n02wx5ok0pvo4k33hlhtkv.pdf)>. Acesso em: 12/2017.
- Bertolin, T. E., Guarienti, C., Farias, C. Souza, F.T., Gutkoski, L. C., Colla, L. M. 2011) Efeito antioxidante da ficocianina em pescado salgado-seco. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras. 35 (4), 751-757.
- Bligh, E. G.; Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal Biochemistry*. 37, 911-17.
- Borguini, R. G. Avaliação do potencial antioxidante e de algumas características físicoquímicas do tomate (*Lycopersicum esculentum*) orgânico em comparação ao convencional. 2006. Tese de doutorado -Faculdade de Saúde Pública / USP, São Paulo, 2006.
- Boscolo, W.; Feiden, A. *Industrialização de Tilápias*. Toledo/ PR. GFM Gráfica & Editora, 2007. 272p.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. *Diário Oficial* [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 2003.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA). Brasília, 1997. Disponível em:<[http://www.crq4.org.br/sms/files/file/microbiologia2\\_alimentos\\_2008.pdf](http://www.crq4.org.br/sms/files/file/microbiologia2_alimentos_2008.pdf)>. Acessado em: 06/17.
- Brasil. Ministério da Saúde (MS), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova o “Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos”. *Diário Oficial* [da] República Federativa do Brasil, Brasília (DF), de 02 janeiro de 2001.
- Brasil. Ministério da saúde. Comissão Nacional de Normas e padrões para alimentos. Resolução. 482-ANV/MS de 23 de setembro de 1999. Anexo 4. In: Associação Brasileira das indústrias de alimento. Compendio da legislação de alimentos. São Paulo:ABIA, v.1/A, p. 7-8 (00). 2001.
- Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*.52, 302-10.



- Cho, J. H., Kim, I. H. 2011. Fish meal – nutritive value. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 95(4), 685–692. DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1111/j.1439-0396.2010.01109.x>.
- Choe, E., Min, D.B., 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive reviews in food Science and food safety*, 5, 169-186.
- Codex Alimentarius (FAO/WHO). 2003. Informe de la 18ª Reunión del Comité del Codex Sobre Grasas y Aceites. Alinorm 03/17. Londres, Reino Unido, 63 p.
- Costa, J.F., Nogueira, R.I., Freitassá, D.G., Freitas, S.P., 2016. Utilização de carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia na elaboração de farinha com alto valor nutricional. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 42, 548-565.
- Fabrício, L.F.F., Pimenta, M.E. S. G., Reis, T. A., Mesquita, T. C., Fukushima, K. L., Oliveira, R. M. E., Zangeronimo, M.G. 2013. Elaboração de caldo de peixe em cubos compactados utilizando pirambeba (*Serrasalmus brandtii*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Semina: Ciências Agrárias*. 34(1), 241-252. DOI: 10.5433/1679-0359.2013v34n1p241.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO, 2016. The state of world fisheries and aquaculture: El estado mundial de la pesca y la acuicultura (SOFIA). *Roma: FAO*.
- Freitas, D. G. C., Resende, A. L. da S. S., Furtado, A.A.L., Tashima, L., Bechara, H.M. 2012. The sensory acceptability of a tilápia (*Oreochromis niloticus*) mechanically separated meat-based spread. *Brazilian Journal of Food Technology*. 15, 166-173. Disponível em: < [http://www.scielo.br/pdf/bjft/v15n2/aop\\_bjft\\_2610.pdf](http://www.scielo.br/pdf/bjft/v15n2/aop_bjft_2610.pdf)>. Acessado em 10/2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1981-67232012005000010>.
- Gryschek, S. F. B., Oeterer, M., Gallo, C. R. 2003. Characterization and frozen storage stability of minced Nile tilápia (*Oreochromis niloticus*) and red tilápia (*Oreochromis spp.*). *Journal os Aquatic Food Product Techology*. 12(3), 57- 69.
- IANFES. International Association of Milk, Food and environmental Sanitarians. 1997. *Guia de procedimento para Implantação do Método de Análise de perigos em Pontos críticos de Controle (APPCC)*. São Paulo (SP), consultoria em alimentação.
- Instituto Adolfo Lutz. 1985. *Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 2. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.
- ISO. 1978. *Meat and meat products*. Determination of fat acids, TC 34- 3496.
- Ke, P. J., Cervantes, E., Roblemartinez, C. 1984. Determination of thiobarbituric acid reactive substances (tbars) in fish tissue by an improved distillation spectrophotometric method. *Journal of Science and Food Agriculture*. 35, 1248-1254.
- Kubitza, F., 2006. Aproveitamento dos subprodutos do processamento de pescados. *Panorama da Aqüicultura*, 16, 23-29.

- Marengoni, N.G., Pozza, M.S.S., Braga, G.C., Lazzeri, D.B., Castilha, L.D., Bueno, G.W., Pasquetti, T.J., Polese, C. 2009 Caracterização microbiológica, sensorial e centesimal de fishburgers de carne de tilápia mecanicamente separada. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 10(1), 168-176.
- Martin, A., Almeida, V. V., Ruiz, M. R., Visentainer, J. E. L., Matshushita, M., Souza, N. E., Visentainer, J. V. 2006. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods Clayton. *Revista de Nutrição*. 19(6), 761-770.
- Oliveira, M.C., Cruz, G.R.B., Almeida, N.M. 2012 Características Microbiológicas, FísicoQuímicas e Sensoriais de “Almôndegas” à Base de Polpa de Tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Revista Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde*, 14(1), 37-44.
- Petenucci, M. E., Stevanato, F. B., Morais, D. R., Santos, L. P., Souza, N. E., & Visentainer, J. V. 2010. Composição e estabilidade lipídica da farinha de espinhaço de tilápia. *Ciência e Agrotecnologia*. 34(5), 1279-1284. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542010000500028>.
- Ramalho, V.C., Jorge, N., 2006. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, São Paulo, 29, 755-760.
- Rebouças, M.C., Rodrigues, M.C.P., Castro, R.J.S, Vieira, J.M.M. 2012. Caracterização do concentrado proteico de peixe obtido a partir dos resíduos da filetagem de tilápia do Nilo. *Semina: Ciências Agrárias*. 33, 697 – 704.
- Silva, D.J., Queiroz, A.C. 2002. Análise De Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos. 3.Ed. Viçosa, MG: Universidade Federal De Viçosa,235p.
- Silva, L.K.S., Oetterer, M., Biato, O.D., Arthur, V. Galvão, J.A. 2016. Defumação e irradiação como coadjuvante na qualidade de tilápia congelada. *Tecnologia e Ciência Agropecuária*. 4(10), 1-7.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A., Jr. (1965). Colorimetry of total phenolics whit phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16(3), 144-158.
- Siqueira, A. A. Z. C. Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da Tilápia (*Oreochromis niloticus*), 2001. 154 f. *Dissertação* (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.
- Soccol, M. C. H. Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração. Piracicaba, 2002. 141 f. *Dissertação* (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.
- Souci, S. W.; Fachman, H. & Kraut, E. *Foods Composition and Nutrition Tables*. Med pharm Scientific Publishers. 2000. 141p.

- Teixeira, C. E. Avaliação do efeito combinado dos processos de irradiação e atmosfera modificada na qualidade bacteriológica, físico-química e sensorial do filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*) resfriado. Niterói, 2009. 119 f. *Tese* (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2009.
- Velloso, E. A. Avaliação sensorial e físico-química de filés de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*) refrigerados e submetidos à radiação gama. Niterói, 2004. 68 f. *Monografia* (Especialização em Irradiação de Alimentos), Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.
- Vidal, J.M.A., Rodrigues, M.C.P., Zapata, J.F.F., Vieira, J.M.M. 2011. Concentrado protéico de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização físico-química e aceitação sensorial. *Revista Ciências Agrônômica*, 42, 92-99.
- WHO, FAO Joint Expert Consultation Report, 1995: Fats and oils in human nutrition. *Nutr Rev.* 53(7), 202–205.

## V. Roll enriched with Nile tilapia meal: sensory, nutritional, technological and microbiological characteristics

(Formatted and publish in Food Science and Technology, on Oct 26, 2017)

(<http://dx.doi.org/10.1590/1678-457x.15317>)

*Running title: Roll enriched with Nile tilapia meal*

### **Importance of current research**

Roll is present in 85% of the bread market in Brazil. Nutritionally, this bread contains low protein content, a high percentage of carbohydrates and small amounts of dietary fiber. Roll nutritional profile can be improved by the addition of fish protein concentrate, since the fish has proteins with high biological value, besides being a source of vitamins, minerals, and essential fatty acids. In this study, the inclusion of 5 to 15% tilapia meal in roll is effective to increase the protein, mineral matter, polyunsaturated fatty acids and the firmness of the roll, in addition to reducing carbohydrates and volume.

### **Abstract**

This study evaluated the chemical composition, fatty acid profile, technological quality, sensory profile and microbiological characteristics of rolls with inclusion of 0, 5, 10 and 15% meal prepared with tilapia carcasses. The moisture and carbohydrate content were linearly reduced ( $P < 0.05$ ) with increasing inclusion of tilapia meal, but a linear increase ( $P < 0.0001$ ) was observed in the protein (9.91 to 14.30%) and ash (1.74 to 4.65%) content. Lipids and calorific value of the rolls were not affected ( $P > 0.05$ ) by inclusion levels, but 15% tilapia meal resulted in greater amount of polyunsaturated fatty acids (4.63%) in relation to 0% inclusion (4.46%). There was a linear increase ( $P < 0.0001$ ) in the firmness of the roll (3.65 to 13.17N) and a linear decrease ( $P < 0.001$ ) in volume and specific volume. Sensory attributes showed a negative linear effect ( $P < 0.01$ ), with acceptance rates ranging from 85.24% (0% inclusion) to 70.57% (15% inclusion). It can be concluded that the inclusion of 5 to 15% tilapia meal in roll is effective to increase the protein, mineral matter, polyunsaturated fatty acids and the firmness of the roll, in addition to reducing carbohydrates and volume. Considering the reduction in sensory acceptance, it is recommended to use up to 10% tilapia meal in rolls.

**Practical Application:** Rools with meal prepared with tilápia carcasses have high nutritional value and great sensory profile

**Key-words:** *Oreochromis niloticus*, waste reuse, fish protein concentrate.

## 1. Introduction

The eating habits have undergone diverse changes resulting from social, environmental and technological factors, replacing the consumption of natural foods with industrialized products, consequently reducing the intake of some essential nutrients, such as vitamins, minerals, and fiber, and increasing the consumption of carbohydrates and fats. These changes have provided great business opportunities to the food industry, which has shown particular interest in improving the nutritional value of processed products (Collar, 2015), giving rise to fortified and enriched products.

Roll is present in 85% of the bread market in Brazil, the preferred product in all social levels (Carr et al., 2006). Nutritionally, this bread contains low protein content, a high percentage of carbohydrates and small amounts of dietary fiber (Dhinda et al., 2012), and vitamins and minerals are also present in minor proportions (Adeleke and Odedeji, 2010). The inclusion of ingredients or partial replacement of wheat flour with other flours, of vegetable or animal origin, can increase the nutritional value of the bread.

Several techniques have been used to improve the nutritional composition of foodstuffs, for example, the partial or total replacement of some traditional ingredients with alternative products and developing products that add nutritional and technological quality associated with a low cost. Therefore, the fortification of these products can be made by the addition of cereals (e.g. barley, spelt, rye, einkorn, millet, oat, sorghum) or pseudocereals (e.g. quinoa, amaranth, buckwheat) (Angioloni and Collar, 2011) and food sources of animal protein, such as fish (Centenaro et al., 2007).

Fish and fish products are sources of protein with high biological value and excellent balance of essential amino acids (Centenaro et al., 2007), they are source of vitamins, minerals and essential fatty acids (Tacon and Metian, 2013; Cho and Kim, 2011) and, therefore, capable of increasing the nutritional value of the diet and foods receiving their supplementation.

The goal of the present study was to evaluate the chemical composition, technical quality, sensory and microbiological profile of rolls added with a meal prepared with Nile tilapia carcasses.

## 2. Material and methods

The bread making process was based on that described by El-Dash et al. (1994). The production of the standard roll used the following proportion of ingredients: 100% special wheat flour for the roll; 58% water; 1% yeast. The production of fortified rolls used three levels of inclusion of fish meal (5%, 10%, and 15%) into the dough, replacing wheat flour.

Fish meal was produced from carcasses (spine with ribs and meat attached to bones after filleting) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) without head and fins. These were washed, weighed, added with BHT (0.01%) and cooked for 60 minutes. After the material was drained and pressed in a hydraulic press (10 tons) to remove excess natural fat and the press cake was ground in an electric meat grinder (CAF). The obtained mass was evenly distributed on trays and dried in a forced ventilation oven at 60°C for 24 hours. The dehydration product was ground in a knife mill, vacuum packed and frozen at -18°C for later inclusion in the dough of rolls.

For the production of rolls, ingredients were mixed in a spiral kneader (AES-25-Braesi) for 13 minutes (6 minutes at 90rpm, and 7 minutes at 180rpm). They were then divided into 60g portions and rounded up. After resting for 20 minutes, balls were shaped with the aid of table molder (MB35- Braesi), poured into molds and fermented for 105 minutes in a fermentation chamber for 24 trays. The roll were baked in a Tedesco gas oven (FTT240) at 180°C for 20 minutes with forced air circulation and without steam injection. After cold, rolls were packed in plastic bags.

Microbiological analyses included the most probable number (MPN) of coliforms at 35°C/gram and 45°C/gram, *Staphylococcus* coagulase-positive count in CFU/gram and *Salmonella* spp, according to APHA (1992).

Analyses of moisture, ash, and proteins were carried out according to the methodology of AOAC (2005) for samples of roll and tilapia meal. For lipids, we used the methodology of Bligh and Dyer (1959). Total carbohydrates were calculated by the difference in the sum of percentages of the compounds analyzed by 100%. The caloric value was calculated for 100g sample and for a serving of the product. Analyses were

performed in triplicate for bread and tilápia meal, but for bread, 5 rolls were randomly selected per treatment.

To determine the fatty acid profile, total lipids were transesterified in accordance with the ISO method. Fatty acid methyl esters were separated on a gas chromatograph (Varian 3380) equipped with a flame ionization detector and a fused silica capillary column CP-7420 Select FAME (100 m long, 0.25 mm internal diameter, 0.25  $\mu\text{m}$  cyanopropyl). The  $\text{H}_2$  flow (carrier gas) was 1.0 mL/min, with 30 mL/min  $\text{N}_2$  (makeup); 30 and 300 mL/min for  $\text{H}_2$  and synthetic air for the flame detector. The injected volume was 0.2  $\mu\text{L}$ , using a 1:80 split ratio, injector, and detector temperatures were 220 and 240°C, respectively, while the column temperature was 165°C during 18min and raised to 235°C at a rate of 4°C/min, held for 24.5 min.

The identification of the fatty acids were made using the following criteria: comparison of retention times of Sigma standard methyl esters (USA) with the samples and comparison of ECL (Equivalent Chain Length) values of methyl esters of samples with values found in Strànsky et al. (1997).

Technological characteristics of the roll were evaluated about 1 hour after baking, determining the specific volume ( $\text{mL g}^{-1}$ ) of the rolls obtained by the ratio between the apparent volume (mL) by the millet seed displacement, and weight (g) of bread (El-Dash et al., 1982). For pH, 10 grams of each sample was homogenized with 90 mL distilled water and the pH of this was measured using a potentiometer (0400, Quimis, São Paulo, Brazil), previously calibrated and operated according to the manufacturer's instructions.

For analysis of the roll texture profile, was evaluated firmness (N) and maximum compression (g) with the aid of a texturometer (TA-XT2i, Stable Micro Systems, Surrey, UK), equipped with cylindrical compression probe (TA -11), 35 mm in diameter. We used 2.0 mm/s pre-test speed and 5.0 mm/s test and post-test speed, 20 mm distance, 20 g trigger type and 5s time between compressions. For analysis of these parameters, the ends of the roll were removed, resulting in a cylinder with approximately 6.0 cm long (Carr and Tadini, 2003).

Values of lightness ( $L^*$ ) were measured using a colorimeter (MINOLTA CR-10, Minolta Camera Co., Osaka, Japan), at an angle of 90°, at room temperature, wherein  $L^*$  defines the lightness ( $L^*=0$  black and  $L^*=100$  white),  $a^*$  (red-green component) and  $b^*$  (yellow-blue component).

Sensory analysis was performed with 50 untrained panelists, randomly selected and without any knowledge of the composition of the samples. The methods of sensory analysis were approved by the Comitê Permanente de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (COPEP) of the Universidade Estadual de Maringá, Maringá PR Brazil (Protocol 458.151/2013-COPEP). For evaluated the attributes surface color, crumb color, appearance, aroma, texture, flavor and overall impression, were using a 9-point hedonic scale, anchored between minimum and maximum: dislike extremely (1) to like extremely (9) (Dutcosky, 2011). With these data, we calculated the Acceptability Index (AI) using Formula 1 (Dutcosky, 2011):

$$IA\% = \frac{\text{average score}}{\text{maximum score}} \times 100 \quad (1)$$

In addition, the panelists were asked about the purchase intent with a 5-point hedonic scale ranging from 1 (definitely will not buy) and 5 (definitely will buy), according to Dutcosky (2011).

For statistical analysis, we used the methodology of generalized linear models (GENMOD procedure) considering the distribution of variables as gamma with inverse link function, using the Statistical Analysis System (SAS, SAS Inst. Inc. Cary, NC, USA). It was considered the effect of treatment and panelists, testing the inclusion levels from the regression analysis. A regression analysis at 5% significance level tested the other parameters. Fatty acid profile, pH and microbiological analysis were descriptively analyzed.

### 3. Results and discussion

The microbiological analysis of roll with different levels of inclusion of tilápia meal indicated a low number (<3 Most Probable Number/gram) of coliforms at 35°C and 45°C, <10<sup>2</sup> Colony-Forming Units/gram of *Staphylococcus* coagulase positive, as well as absence of *Salmonella* sp., showing that the rolls were fit for human consumption and within the microbiological standards required by the Brazilian legislation (BRASIL, 2001).

The proximate composition of roll showed a significant effect (P<0.01) between treatments for moisture, protein, ash, and carbohydrates (Table 1). The contents of moisture and carbohydrates decreased linearly (P<0.05) as increased inclusion of tilápia meal ( $y = -0.20118x + 36.04926$ ,  $R^2 = 0.58$  for moisture and  $y = -0.28884x + 50.90774$ ,  $R^2 = 0.90$  for carbohydrates).



Table 1. Proximate composition and caloric value of rolls with different levels of inclusion of Nile tilapia meal

	Inclusion levels				P value
	0%	5%	10%	15%	
Moisture	37.00±0.18	33.69±0.69	33.89±0.02	33.58±0.09	0.0271 <sup>a</sup>
Crude protein	9.91±0.25	12.24±0.04	13.13±0.08	14.30±0.19	<0.0001 <sup>b</sup>
Lipids	0.82±0.03	0.95±0.01	1.26±0.03	0.99±0.01	0.1431
Ash	1.74±0.04	3.01±0.18	3.88±0.11	4.65±0.13	<0.0001 <sup>c</sup>
Carbohydrates	50.53±0.40	50.11±0.54	47.84±0.17	46.48±0.23	0.0003 <sup>d</sup>
Calorie (kcal/100g)	249.14±0.53	257.97±2.08	255.21±0.39	251.99±0.14	0.6599

<sup>a</sup>y = -0.20118x + 36.04926. R<sup>2</sup>=0.58; <sup>b</sup>y = 0.28142x + 10.28392. R<sup>2</sup>=0.94; <sup>c</sup>y = 0.192386x + 1.876885. R<sup>2</sup>=0.97; <sup>d</sup>y = -0.28884x + 50.90774. R<sup>2</sup>=0.90; Values presented as mean ± standard error of the mean.

The decrease in moisture content may be related to moisture in the tilapia meal, which was 1.78%. Wheat flour contains an average of 14.2% moisture (Van Steertegem et al., 2013), and when replacing the flour with tilapia meal (1.78% moisture), there was a reduction in the moisture content of the roll. Moisture is one of the most sensitive quality attributes, significantly interfering with deterioration after a few days of storage (Besbes et al., 2014), thus the reduction in moisture can be important to increase the shelf life of the product.

There was a linear increase (P <0.0001) for crude protein (y = 0.28142x + 10.28392 R<sup>2</sup>=0.94) and ash (y = 0.192386x + 1.876885 R<sup>2</sup>=0.97), with 0% inclusion resulted in 9.91% protein and 1.74% ash, and 15% inclusion resulted in 14.30% and 4.65% of protein and ash, respectively. This increase was due to the protein and ash content present in Nile tilapia meal (51.13% crude protein and 37.66% ash).

Centenaro et al. (2007) developed roll with the inclusion of wet and dried washed pulp of *Prionotus punctatus* and obtained average values of 11.0% crude protein for bread without the inclusion of pulp, 15.5% with 3% dry pulp, 17.1% with 5% dry pulp and 17.5% with 50% wet pulp.

In roll added with 0, 5, 10, 15 and 20% tilapia protein concentrate, we can observe a linear increase in crude protein (9.08, 10.59, 12.14, 16.45 and 18.01%, respectively) and a decrease in carbohydrates (60.20, 58.00, 57.86, 48.91 and 49.05% respectively) (Adeleke and Odedeji, 2010), similar to the effect observed in this study for these variables. These results demonstrate that inclusion of fishmeal is effective to enrich bread with protein and other products such as pasta (Goes et al., 2016); khitchri (Hussain et al., 2007), snacks (Justen et al., 2016), salt biscuits (Ibrahim, 2009), among other products.

The reduction in carbohydrate content with the addition of fishmeal to roll is due to the reduced amount of wheat flour. Considering that wheat flour represented the largest source of carbohydrates in a roll, this decrease was possible because the inclusion of tilápia meal was over the total wheat flour; thus, the greater the inclusion, the lower the amount of wheat flour, which influenced directly on the roll carbohydrate content. Furthermore, carbohydrates values found in rolls of this study are lower than those obtained by Centenaro et al. (2007), who obtained carbohydrates from 77.6 to 83.5%.

The increased ash content of the roll (from 1.74 to 4.65% for 0 to 15% inclusion of fishmeal, respectively) can be considered beneficial since aquatic animal food products are a richer source of most essential minerals and trace elements than most terrestrial meats (Tacon and Metian, 2013). In pasta with different levels of inclusion (0, 10, 20 and 30%) Nile tilápia meal, Goes et al. (2016) observed a linear increase in the concentrations of calcium, phosphorus, magnesium, sodium, and zinc, showing that the inclusion of tilápia meal can improve the mineral profile of the product.

Lipid content and caloric value of rolls were not affected ( $P > 0.05$ ) by different levels of inclusion of Nile tilápia meal, averaging 1.00% for lipids and 253.58 kcal 100g<sup>-1</sup> for caloric value. However, the Nile tilápia meal used had 5.82% fat, and despite the lack of difference in lipid content, it can be verified changes in the fatty acid profile of the rolls, according to the different inclusion levels of fishmeal.

The fatty acid profile (Table 2) detected the predominance of oleic (18:1n-9c), palmitic (16:0) and stearic (18:0) acids in all rolls. This is due to tilápia meal composition, because, in meals prepared with heads or spine of tilápia, there were a predominance of palmitic (16:0), oleic (18:1n-9) and linoleic (18:2n-6) acids (Souza et al., 2008).

The inclusion of 15% Nile tilápia meal into roll resulted in higher amounts of polyunsaturated fatty acids (4.63%), compared to roll without inclusion (4.46%). Moreover, the inclusion of 5, 10 or 15% Nile tilápia meal promoted an increase in the content of omega-3 fatty acids (0.46, 0.49 and 0.49%, respectively) compared to the control roll (0.44%). For omega-6 fatty acids, the levels of 10 and 15% inclusion of meal had higher values (3.90 and 3.96%) in comparison with roll without Nile tilápia meal (3.84%). The highest amount of omega-6 in the rolls is related to the greater presence of this series of fatty acids in Nile tilápia, as pointed out by Bonafé et al. (2013).

Table 2. Fatty acid profile (%) of rolls with different levels of inclusion of Nile tilapia meal.

Fatty acid (%)	Inclusion levels (%)			
	0	5	10	15
14:0	2.49	2.46	2.48	2.44
14:1	1.00	1.02	1.09	1.02
15:0	0.46	0.44	0.45	0.45
16:0	25.74	25.83	25.83	25.70
16:1n-9	0.29	0.21	0.23	0.29
16:1n-7	3.01	2.94	3.18	3.10
16:1n-5	0.56	0.41	0.53	0.58
17:0	1.08	1.07	1.07	1.08
18:0	15.61	15.54	15.03	15.70
18:1n-9c	42.62	43.50	43.24	42.12
18:1n-7	1.36	1.04	1.10	1.53
18:2n-6c	3.56	3.56	3.51	3.60
18:3n-6	0.15	0.15	0.15	0.16
18:3n-3	0.44	0.46	0.49	0.46
20:0	0.82	0.84	0.88	0.85
20:1n-9	0.37	0.39	0.37	0.39
21:0	0.13	0.14	0.13	0.14
20:3n-6	ND	ND	0.06	0.05
20:4n-6	0.13	ND	0.18	0.14
20:3n-3	ND	ND	ND	0.03
24:1n-9	0.17	ND	ND	0.18
Sum of saturated fatty acids	46.34	46.32	45.87	46.35
Sum of monounsaturated fatty acids	63.62	64.02	63.67	63.37
Sum of polyunsaturated fatty acids	4.46	4.17	4.39	4.63
n-3 sum	0.44	0.46	0.49	0.49
n-6 sum	3.84	3.70	3.90	3.96

ND= Non-detected

The highest content of polyunsaturated fatty acids in roll added with tilapia meal demonstrates the improvement in the nutritional profile of roll, as these fatty acids, especially omega-3, are associated with many health benefits, mainly by reducing the incidence of cardiovascular diseases (Walker et al., 2013; Marik and Varon, 2009).

As for the texture of roll (Table 3), the weight and the compression were not affected ( $P > 0.05$ ) by different levels of inclusion of tilapia meal, with a mean weight of 49.82 g and mean compressive deformation of 961.90 kgf. These values are within the standard range since a typical roll in Brazil has 50 g final weight, 12.5 cm long and 5.5 cm in diameter (Carr et al., 2006).

Table 3. Analysis of texture, volume and pH of rolls with different levels of inclusion of Nile tilapia meal

	Inclusion levels				P value
	0%	5%	10%	15%	
Weight (g)	49.30±1.22	50.50±0.50	49.50±0.50	50.00±0.32	0.7017
Firmness (N)	3.65±0.13	5.16±0.47	7.68±0.31	13.17±0.59	<0.0001 <sup>a</sup>
Compression (Kgf)	826.90±78.51	1078.00±93.77	1045.70±104.53	897.00±94.57	0.3350
Volume (ml)	245.00±2.89	211.33±9.26	180.00±10.78	131.33±5.92	<0.0001 <sup>b</sup>
Specific volume (ml·g <sup>-1</sup> )	4.53±0.09	3.84±0.30	3.25±0.33	2.33±0.18	<0.001 <sup>c</sup>
pH	6.04	5.89	5.94	5.89	-

<sup>a</sup>y = 0.686033x + 2.069833 R<sup>2</sup> = 0.74; <sup>b</sup>y = -7.4467x + 247.7667 R<sup>2</sup> = 0.92; <sup>c</sup>y = -0.1438x + 4.566 R<sup>2</sup> = 0.99. Values presented a mean ± standard error.

Additionally, there was a linear increase (P<0.0001) in the firmness of rolls, ranging from 3.65 N (0% inclusion) to 13.17 N (15% inclusion), according to equation  $y = 0.6860x + 2.069$  (R<sup>2</sup> = 0.74). This indicates that, as fishmeal was added into the dough, there was an increase in dough stiffness and hardness, resulting in a more compacted mass (Figure 1).

For volume and specific volume (Table 3), it was observed that with increasing inclusion of fishmeal, there was a linear decrease in these parameters (P <0.001). The roll volume decreased from 245.00 mL (0% inclusion) to 131.33 mL with 15% inclusion of fishmeal ( $y = -7.4467x + 247.7667$ ; R<sup>2</sup> = 0.92). The specific volume showed a similar behavior, ranging from 4.53 mL g<sup>-1</sup> with 0% inclusion to 2.33 mL g<sup>-1</sup> with 15% inclusion ( $y = -0.1438x + 4.566$  R<sup>2</sup> = 0.99), which represents a reduction of almost 50% of its specific volume. In this way, although the weight of roll has not changed, the specific volume varied significantly between treatments, with a linear reduction with increasing levels of inclusion of Nile tilapia meal. From a technological perspective, the reduced specific volume of rolls is a disadvantage, because it changes the conventional characteristics of the dough and can affect their acceptance.

The decrease in specific volume of the roll was because the roll volume is given by entrapment of carbon dioxide, from the fermentation, by the gluten network (Verheyen et al., 2015). Therefore, replacing part of the wheat flour, which is the main source of sugars in the formulation, with fishmeal, a non-fermentable product, in addition to reducing carbon dioxide production tends to reduce the strength of the gluten network, resulting in a lesser entrapment of gas and, consequently, a smaller volume.

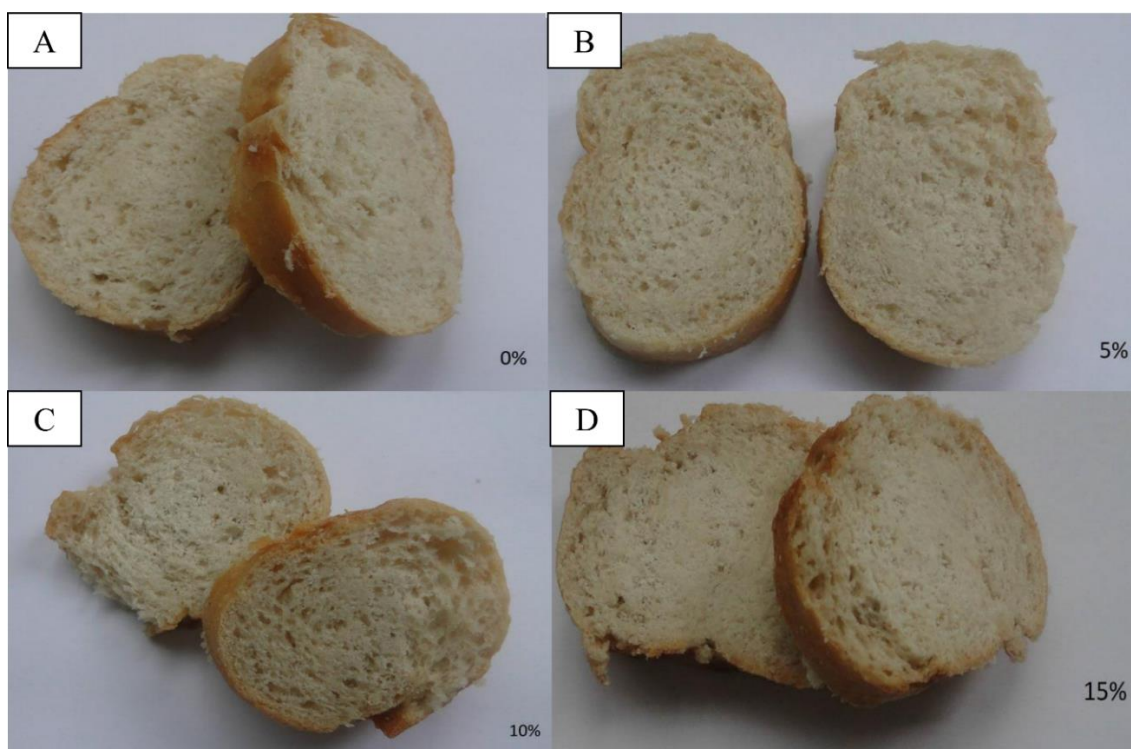


Fig. 1. Roll with (A) 0%, (B) 5%, (C) 10% and (D) 15% inclusion of Nile tilapia meal.

This same technology characteristic was also observed by Centenaro et al. (2007), where the specific volume of roll diminished gradually with the addition of 3 and 5 % fish dried pulp ( $4.08$  and  $3.32 \text{ mL g}^{-1}$ ) and 50% fish wet pulp ( $2.29 \text{ mL g}^{-1}$ ). This suggests that when working with the inclusion of fishmeal into bakery products, its inclusion should be done with caution to not harm the technological characteristics of the product. Sidwell and Hammerle (1970) concluded that an addition of 10% or more of fish protein concentrate changes the texture of bread, making dough coarser and more compact.

Moreover, the inclusion of tilapia meal in roll led to a reduction in pH (Table 1), which varied between 6.04 in the control roll and 5.89; 5.94 and 5.89 for 5, 10 and 15% inclusion, respectively. However, this pH remained within the expected range for bread (Buddrick et al., 2014).

Regarding the results of the color of rolls with the addition of Nile tilapia meal (Table 4), it can be seen that the lightness decreased linearly ( $P < 0.0001$ ) with increasing levels of addition of tilapia meal. The chroma  $b^*$  (yellow-blue component) showed a linear increase ( $P = 0.0002$ ), from 17.30 for the level 0 to 19.03 for 15% inclusion. This demonstrates that the rolls became darker with the increase in inclusion levels of fishmeal, and this may occur by the color of the meal.

Table 4. Colorimetry of rolls with different levels of inclusion of Nile tilapia meal

	Inclusion levels				P-value
	0%	5%	10%	15%	
L	76.78±0.12	76.40±0.28	76.11±0.18	74.47±0.25	<0.0001 <sup>a</sup>
a*	6.39±0.08	6.48±0.12	6.15±0.08	6.43±0.14	0.6983
b*	17.30±0.23	18.19±0.18	17.93±0.19	19.03±0.28	0.0002 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>y = -0.1443 x + 77.0235 R<sup>2</sup>=0.63; <sup>b</sup>y = 0.0991 x + 17.3705 R<sup>2</sup>=0.45. Values presented as mean ± standard error. L\*= lightness; a\*= red-green component; b\*= yellow-blue component.

The sensory profile of roll (Table 5) clearly showed that the increase in fishmeal inclusion level caused a decrease in acceptance of the rolls, once there was a negative linear effect (P <0.01) for all properties.

For the acceptability index, the control roll averaged 85.24%, and this value decreased linearly to 70.57% in a roll with 15% inclusion of fishmeal. This reduction in acceptance may be related to the increased firmness of rolls, as well as changes in color due to the inclusion of tilapia meal, as seen in the instrumental color analysis. Despite the decrease in acceptance of the roll containing fishmeal, the lower observed value (70.57%) can still be considered good, since Dutcosky (2011) recommends a minimum acceptance of 70% for the product is well accepted. Furthermore, scores above 6 (like slightly) indicate that the tasters had a positive acceptance of the product, regardless of treatment.

Table 5. Sensory profile, acceptability index, purchase intent of rolls with different levels of inclusion of Nile tilapia meal

Attributes	Inclusion levels				P-value
	0%	5%	10%	15%	
Surface color <sup>1</sup>	7.96±0.17	7.90±0.15	7.78±0.15	7.10±0.17	0.0002 <sup>a</sup>
Crumb color <sup>1</sup>	7.44±0.18	7.20±0.23	6.42±0.27	6.04±0.28	<0.0001 <sup>b</sup>
Appearance <sup>1</sup>	7.12±0.21	7.12±0.21	6.24±0.28	5.70±0.31	<0.0001 <sup>c</sup>
Aroma <sup>1</sup>	7.98±0.17	7.74±0.16	7.18±0.21	6.98±0.26	0.0001 <sup>d</sup>
Texture <sup>1</sup>	7.58±0.23	7.56±0.19	7.10±0.18	6.32±0.25	0.0002 <sup>e</sup>
Flavor <sup>1</sup>	7.64±0.21	7.54±0.19	6.90±0.22	5.84±0.27	<0.0001 <sup>f</sup>
Overall impression <sup>1</sup>	7.98±0.18	7.76±0.16	7.02±0.21	6.48±0.26	<0.0001 <sup>g</sup>
Acceptability index (%)	85.24±1.37	83.84±1.14	77.21±1.48	70.57±1.83	<0.0001 <sup>h</sup>
Purchase intent <sup>2</sup>	4.50±0.11	4.26±0.10	3.64±0.13	3.14±0.16	<0.0001 <sup>i</sup>

<sup>1</sup>Hedonic scale from 1 (dislike extremely) to 9 (like extremely) <sup>2</sup> Hedonic scale from 1 (definitely will not buy) to 5 (definitely will buy). <sup>a</sup>y = y = -5.4x + 8.09 R<sup>2</sup> = 0.77; <sup>b</sup>y = -9.96x + 7.522 R<sup>2</sup> = 0.96; <sup>c</sup>y = -10.28x + 7.316 R<sup>2</sup> = 0.89; <sup>d</sup>y = -7.12x + 8.004 R<sup>2</sup> = 0.96; <sup>e</sup>y = -8.48x + 7.776 R<sup>2</sup> = 0.86; <sup>f</sup>y = -12.08x + 7.886 R<sup>2</sup> = 0.88; <sup>g</sup>y = -10.48x + 8.096 R<sup>2</sup> = 0.96; <sup>h</sup>y = -101.28x + 86.811 R<sup>2</sup> = 0.93; <sup>i</sup>y = -9.4x + 4.59 R<sup>2</sup> = 0.97. Values presented as mean ± standard error.

Breads included with 0, 5, 10, 15 and 20% tilapia protein concentrate developed by Adeleke and Odedeji (2010) had the same sensory acceptance up to 15% inclusion, and only the level of 20% protein concentrate resulted in lower preference. Also,

Centenaro et al. (2007) reported an increasing rejection by panelists according to increased concentration of fishmeal in the formulation of bread, due to changes in flavor.

The sensory characteristics most altered by the inclusion of 15% fish meal in the roll were appearance (5.70) and flavor (5.84), indicating a lower acceptance for these characteristics, since the scores were between 5 (neither like nor dislike) and 6 (like slightly). The lowest score for purchase intent (3.14) was also observed for 15% inclusion, indicating indecision of tasters as too the purchase of this bread (score 3 = maybe buy/maybe not buy).

As rolls are accepted and consumed by people of any age and social class, the products developed in this work represent a practical and healthy option that can be used to improve the profile of protein, mineral and fatty acids are taken daily.

#### 4. Conclusion

The addition of 5 to 15% Nile tilapia meal to roll has proven to be effective to increase the content of protein, mineral matter and polyunsaturated fatty acids of the roll, besides reducing carbohydrate content. The increase in the level of inclusion of Nile tilapia meal increases the firmness of roll and decreases its volume and reduces the acceptance of the product. Therefore, it is recommended to use up to 10% of tilapia meal in a roll.

#### 5. References

- Adeleke, R.O. & Odedeji, J.O. (2010). Acceptability studies on bread fortified with Tilapia fish flour. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9, 531-534.
- Angioloni, A.; Collar, C. (2011). Nutritional and functional added value of oat, Kamut, spelt, rye and buckwheat versus common wheat in breadmaking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 1283–1292.
- AOAC (2005). Official Methods of Analysis of AOAC international, 18th edn. Gaithersburg, MD, USA: AOAC international.
- APHA (1992). American Public Health Association. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3th edn. Washington: 15 APHA.
- Besbes, E., Jury, V., Monteau, J.Y. & Bail, A. (2014). Effect of baking conditions and storage with crust on the moisture profile, local textural properties and staling kinetics of pan bread. *Lebensmittel Wissenschaftund Technologie*, **58**, 658-666.

- Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, **37**, 911-917.
- Bonafé, E.G., Morais, D.R.D., Figueiredo, L.C.D., Souza, N.E., Santos, O.O., Claus, T., & Visentainer, J.V. (2013). Incorporation and profile of fatty acids in tilápia fillets (*Oreochromis niloticus*) fed with tung oil. *Food Science and Technology*, **33**, 47-51.
- Brasil. (2001) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília: ANVISA.
- Buddrick, O.; Jones, O. A.; Cornell, H. J.; Small, D. M. (2014). The influence of fermentation processes and cereal grains in wholegrain bread on reducing phytate content. *Journal of Cereal Science*, **59**: 3-8.
- Carr, L.G. & Tadini, C.C. (2003). Influence of yeast and vegetable shortening on physical and texture parameters of frozen part baked French bread. *Lebensmittel Wissenschaftund Technologie*, **36**, 609-614.
- Carr, L.G., Rodas, M.A., Della Torre, J.C. & Tadini, C. C. (2006). Physical, textural and sensory characteristics of 7-day frozen part-baked French bread. *Lebensmittel Wissenschaftund Technologie*, **39**, 540-547.
- Centenaro, G.S., Feddern, V., Bonow, E.T. & Salas-Mellado, M. (2007). Enriquecimento de pão com proteínas de pescado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **27**, 663-668.
- Cho, J.H. & Kim, I.H. (2011). Fishmeal nutritive value. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. **95**, 685-692.
- Collar, C. (2015). Bread and bakery products. p. 559-572. In: Guardia, M.; Garrigues, S., eds. *Handbook of Mineral Elements in Food*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.
- Dhinda, F., Lakshmi A.J.; Prakash, J. & Dasappa, I. (2012). Effect of ingredients on rheological, nutritional and quality characteristics of high protein, high fibre and low carbohydrate bread. *Food and Bioprocess Technology*. **5**, 2998-3006.
- Dutcosky, S.D. (2011). *Análise Sensorial de Alimentos*. 3º ed. Curitiba (PR): Champagnat.
- El-Dash, A.A., Camargo, C.O. & Diaz, N.M. (1982). Fundamentos da tecnologia de panificação. *Secretaria da Indústria, Comércio e Tecnologia do Estado de São Paulo*. Pp. 243.
- El-Dash, A.A., Mazzari, M.R. & Germani, R. (1994). Tecnologia de farinhas mistas. Uso de farinha mista de trigo e milho na produção de pães. *EMBRAPA-CTAA*, **1**, 42-88.
- Goes, E.S.R., Souza, M.L.R., Michka, J.M.G., Kimura, K.S., Lara., J.A.F., Delbem, A.C.B.; Gasparino, E. (2016). Fresh pasta enrichment with protein concentrate of tilápia: nutritional and sensory characteristics. *Food Science and Technology*, **36**: 76-82.



- Hussain, I., Akhtar, N.; Hussain, S. (2007). Evaluation of weaning food khitchri incorporated with different levels of fish protein concentrate. *Animal Plant Sciences*, 17: 12-17.
- Ibrahim, S.M. (2009). Evaluation of production and quality of salt-biscuits supplemented with fish protein concentrate. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 4: 28-31.
- Justen, A. P.; Souza, M. L. R.; Monteiro, A. R.; Mikcha, J. M.; Gasparino, E.; Delbem, Á. B.; Carvalho, M.R.B.; Del Vesco, A. P. (2016). Preparation of extruded snacks with flavored flour obtained from the carcasses of Nile tilapia: physicochemical, sensory, and microbiological analysis. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, (just-accepted).
- Marik, P.E.; Varon, J. (2009). Omega-3 dietary supplements and the risk of cardiovascular events: A Systematic Review. *Clinical Cardiology*, 32: 365–372
- Sidwell, V.D. & Hammerle, O.A. (1970). Changes in physical and sensory characteristics of doughs and of bread containing various amounts of fish protein concentrate and lysine. *Cereal Chemistry*, 47,739-745.
- Souza, N.E., Stevanato, F.B., Garcia, E.E., Visentainer, J.E., Zara, R.F.; Visentainer, J.V. (2008). Supplemental dietary flaxseed oil affects both neutral and phospholipid fatty acids in cultured tilapia. *European journal of lipid science and technology*, 110: 707-713.
- Strànsky, K.; Jursík, T.; Vitek, A. (1997) Standard equivalent chain length values of monoenic and polyenic methylene interrupted fatty acids. *Journal of High Resolution Chromatography*, 20: 143-158.
- Tacon, A. G.; Metian, M. (2013). Fish matters: Importance of aquatic foods in human nutrition and global food supply. *Reviews in Fisheries Science*, 21: 22-38.
- Van Steertegem, B.; Pareyt, B.; Slade, L.; Levine, H.; Brijs, K.; Delcour, J. A. (2013). Impact of heat treatment on wheat flour Solvent Retention Capacity (SRC) profiles. *Cereal Chemistry*, 90: 608-610.
- Verheyen, C.; Albrecht, A.; Elgeti, D.; Jekle, M.; Becker, T. (2015). Impact of gas formation kinetics on dough development and bread quality. *Food Research International*, 76: 860-866.
- Walker, C.G., Jebb, S.A.; Calder, P. C. (2013). Stearidonic acid as a supplemental source of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids to enhance status for improved human health. *Nutrition*, 29: 363-369.