

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HIGIENE VETERINÁRIA
E PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE PRODUTOS DE
ORIGEM ANIMAL

MARIA LÚCIA GUERRA MONTEIRO

**Aproveitamento de resíduos de tilápia (*Oreochromis
niloticus*) para elaboração de novos produtos com valor
agregado**

NITERÓI
2013

MARIA LÚCIA GUERRA MONTEIRO

**Aproveitamento de resíduos de tilápia (*Oreochromis niloticus*)
para elaboração de novos produtos com valor agregado**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Orientadora: Prof^a. Dra. ELIANE TEIXEIRA MÁRSICO

Coorientador: Prof. Dr. CARLOS ADAM CONTE JÚNIOR

Niterói

2013

M775 Monteiro, Maria Lúcia Guerra
Aproveitamento de resíduos de tilápia
(Oreochromis niloticus) para elaboração de novos
produtos com valor agregado/ Maria Lúcia Guerra
Monteiro; orientadora Eliane Teixeira Mársico. –
2013.
177f.

Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e
Processamento Tecnológico de Produtos de Origem
Animal)– Universidade Federal Fluminense, 2013.
Orientadora: Eliane Teixeira Mársico

1. Processamento de pescado. 2. Tilápia. 3.
Alimento de origem animal. 4. Valor nutritivo

CDD 664.94

MARIA LÚCIA GUERRA MONTEIRO

**Aproveitamento de resíduos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) para
elaboração de novos produtos com valor agregado**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Eliane Teixeira Mársico – Orientadora
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Carlos Adam Conte Júnior - Coorientador
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Helio de Carvalho Vital
Centro Tecnológico do Exército

Prof. Dr. Rogério Souza de Jesus
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Prof. Dr. Thiago da Silveira Alvares
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Eduardo Eustáquio Souza Figueiredo
Universidade Federal de Mato Grosso

Niterói
2013

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre presente em minha vida e tornar tudo possível.

A minha mãe Sylvia pelo exemplo de vida, amor, carinho, ajuda e paciência. Obrigada por tudo!

As minhas irmãs Fátima e Regina e familiares por todo amor e apoio.

Ao meu namorado Pedro Luiz pelo companheirismo, compreensão, ajuda, amor e paciência. Obrigada por cada dia!

A minha orientadora Professora Eliane Teixeira Mársico por toda atenção, apoio, confiança, paciência, incentivo, ensinamentos, exemplo profissional, carinho e amizade transmitidas diariamente.

Ao meu coorientador Professor Carlos Adam Conte Júnior por toda paciência, ensinamentos, confiança, carinho, amizade e apoio diários.

Ao Professor Helio de Carvalho Vital pela atenção, apoio, ensinamentos e amizade.

Ao Professor Sérgio Borges Mano por diariamente compartilhar seus conhecimentos, pelo carinho, atenção, apoio, paciência e amizade.

A Carlos Frederico Guimarães, técnico do Laboratório de Controle Físico-Químico, por toda ajuda durante o Curso.

A equipe da Pós-Graduação Drausio, Mariana e André pela atenção e ajuda durante a realização do Curso de Doutorado.

Aos meus eternos amigos, especialmente, Ana Carolina e Ana Luiza, por todo apoio, carinho, amor, paciência, compreensão e por tornar os momentos difíceis bem mais fáceis de serem vividos. Muito obrigada!

Aos meus amigos da Universidade Federal Fluminense, Alexandre, Anna Carolina, Bruno, Bruna, Carla, César, Marion, Micheli e Roberta, por toda ajuda prestada durante o curso, pela atenção, carinho e amizade nos momentos mais difíceis. Muito obrigada!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram na realização do presente trabalho.

BIOGRAFIA

Maria Lúcia Guerra Monteiro, brasileira, filha de Sylvia Maria Guerra Monteiro e Hermes Borges Monteiro, nasceu em 05 de Agosto de 1982, na cidade do Rio de Janeiro. No ano de 2001, ingressou na Universidade Estácio de Sá, onde cursou Medicina Veterinária até o ano de 2006. No segundo semestre deste mesmo ano, iniciou estágio no Laboratório de Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal, da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF), onde participou direta e indiretamente no desenvolvimento de projetos de pesquisa. No ano de 2007, ingressou no Curso de Especialização em Irradiação em Alimentos, na Faculdade de Veterinária da mesma Universidade e, no ano seguinte, no Curso de Especialização em Higiene em Produtos de Origem Animal, na Universidade Castelo Branco. No ano de 2009, iniciou o Mestrado em Higiene e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, na Faculdade de Veterinária da UFF. Neste mesmo ano, apresentou oralmente, um trabalho científico no INAC (“International Nuclear Atlantic Conference”), realizado no Rio de Janeiro e, apresentou na forma de resumo trabalhos de pesquisas na II Mostra UFF em Higiene e Tecnologia de Alimentos. Durante o período de realização do Mestrado (Março de 2009 a Janeiro de 2011), participou no desenvolvimento de pesquisas junto à equipe do Laboratório de Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal, da Faculdade de Veterinária da UFF que geraram publicação de artigos científicos publicados nas Revistas Ciência Rural, Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias e Revista Brasileira de Ciência Veterinária. Além disso, junto ao grupo do Laboratório de Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal, participou de projetos contemplados por órgãos de fomento (Edital FAPERJ/APQ1/2010; Edital FAPERJ nº 04/2010; Edital nº 27/2010; FAPERJ E-26/111.196/2011; CNPq 551079/2011-8; FAPERJ E-26/111.933/2011; FAPERJ E-26/112.620/2012; FAPERJ E-26/110.406/2012; FAPERJ E-26/111.701/2012; CNPq 479288/2012-7). No ano de 2011, iniciou o Doutorado em Higiene e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, na Faculdade de Veterinária da UFF. Neste período enviou trabalhos na forma de resumo expandido para o XI Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, em Salvador, desenvolveu e participou de projetos, auxiliou alunos de Iniciação Científica. Entre Agosto a Dezembro de 2012 realizou doutorado sanduíche na área de Ressonância Magnética Nuclear de Alto Campo no Instituto de Química da Universidad Complutense de Madrid, Espanha.

RESUMO

A preferência de consumo da carne de tilápia pelos brasileiros é representada pelo filé, sendo o principal produto comercializado pelas indústrias que beneficiam esta espécie. Todavia, durante o processo de filetagem são gerados resíduos, como cabeças e carcaças, que comumente são descartados determinando grave problema ambiental. Além disso, devido à heterogeneidade de crescimento dos peixes pode ocorrer o descarte de animais que não atingem o tamanho comercial adequado, comprometendo a aceitação dos filés, os quais normalmente são subutilizados como resíduos de produção. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi o aproveitamento de resíduos de tilápia para elaboração de novos produtos com valor agregado. O atual estudo foi dividido em quatro partes: (1) Desenvolver e avaliar, através de parâmetros físico-químicos e microbiológicos, farinhas e sopa instantânea elaboradas a partir de resíduos do processamento de tilápia (Artigo I); os resultados determinaram que as polpas, farinhas e sopa instantânea apresentaram elevado teor proteico e qualidade microbiológica adequada. (2) Realizar a caracterização nutricional e tecnológica de produtos elaborados a partir de resíduos de tilápia sugerindo a substituição parcial de ingredientes em pó comumente utilizados nas indústrias de alimentos por farinhas de tilápia bem como a comercialização da sopa instantânea (Artigo II); os resultados demonstraram que as farinhas e sopa instantânea apresentaram elevado valor nutricional e características tecnológicas promissoras quando comparadas aquelas farinhas usualmente utilizadas nas indústrias de alimentos. (3) Avaliar o efeito de diferentes concentrações de transglutaminase nos parâmetros físico-químicos, bacteriológicos, instrumentais e sensoriais de produtos reestruturados elaborados a partir de filés de tilápia que não atingiram o peso comercial adequado (Artigo III); os resultados demonstraram que a adição da transglutaminase não influencia na composição centesimal e tampouco na multiplicação bacteriana, no entanto, aprimorou atributos físicos, instrumentais e sensoriais que foram determinantes para a aceitação global. (4) Avaliar o efeito da redução de sal no perfil sensorial, nos parâmetros físicos e instrumentais de produtos reestruturados de tilápia elaborados com uma concentração predeterminada de transglutaminase (Artigo IV); os resultados demonstraram que a utilização de três tipos de sal (cloreto de sódio, cloreto de potássio e cloreto de magnésio) resultou em superior aceitabilidade e intenção de consumo. Baseado nos dados obtidos nas quatro etapas do trabalho concluiu-se que a utilização dos resíduos de cabeça e carcaça de tilápia pode ser uma alternativa viável como matéria-prima de baixo custo para a produção de novos produtos e para substituição parcial em produtos comumente elaborados a partir de farinhas convencionais, diminuindo a poluição ambiental, agregando valor aos resíduos, possibilitando alternativa de lucro para indústria, além de atender a demanda dos consumidores atuais por um alimento de fácil preparo, baixo custo e alto valor nutritivo. Além disso, a concentração de 0,5% de transglutaminase foi suficiente para obtenção de produtos reestruturados de tilápia com elevada aceitabilidade e intenção de consumo, e os cloretos de potássio e magnésio podem ser utilizados como substitutos ao sal em produtos reestruturados de tilápia diminuindo os riscos a saúde associados ao elevado consumo de sódio.

Palavras-chave: farinhas, sopa instantânea, transglutaminase, redução de sal.

ABSTRACT

Fillets are the national preference for tilapia meat consumption of the Brazilian. However, wastes (heads and carcasses) are commonly discarded during the filleting process resulting in severe environmental problems. Moreover, heterogeneity in growth performance and rearing methods can be generates animals below the desired weight and results in economic loss for the industry due to consumer rejection. These fillets are underutilized as waste production. In this context, the aim of this study was to manufacturing of value-added product by using wastes from tilapia (*Oreochromis niloticus*) processing. The study was divided in four parts: (1) Develop and evaluate by chemical and microbiological methods new products, including an instant soup, produced from the heads and carcasses of tilapia (Paper I); pulps, flours and instant soup showed high protein content and satisfactory microbiological quality. (2) Perform a nutritional and technological characterization of value-added products from tilapia wastes suggesting partial replacement of commonly products used by food industries (Paper II); flours and instant soup had high nutritional value and promising technological characteristics when compared to flours usually commercialized by food industries. (3) Evaluate physical, chemical, instrumental color and texture properties, as well as, sensory profile of restructured tilapia steaks elaborated with different levels of microbial transglutaminase (MTG). Bacterial and pH changes were also evaluated during frozen storage for 90 days (Paper III); different levels of MTG did not affect ($P > 0.05$) proximate composition or the bacterial growth during frozen storage of restructured tilapia steaks. However, this enzyme improved physical, instrumental and sensory attributes which were determinants for overall acceptance. (4) Evaluate physical, chemical and sensory characteristics of low-sodium tilapia steaks restructured with transglutaminase (Paper IV); the tri-salt (T3) steaks improved some attributes and resulted in better acceptability and purchase intention. Based on the data obtained in the four steps of this study, we concluded that heads and carcasses of tilapia could be a viable alternative of low-cost raw materials to produce new products and to partial replacing in products commonly elaborated by using conventional flours, decreasing environmental pollution, adding value to fish wastes, increasing industry profits and providing consumers with an easy-to-prepare, low-cost and nutritious food. Moreover, MTG concentration (0.5%) was enough to obtain restructured tilapia steaks with high acceptability and purchase intention, and potassium and magnesium might be an efficient replacer of salt (NaCl) in restructured tilapia steaks for decreasing the risk factor for heart failure associated with high sodium consumption.

Keywords: flours, instant soup, transglutaminase, salt reduction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fig. 1 Desenho experimental delineado para desenvolvimento do artigo 1, p. 50

Fig. 2 Desenho experimental delineado para desenvolvimento do artigo 2, p. 62

Fig. 3 Desenho experimental delineado para desenvolvimento do artigo 3, p. 90

Fig. 4 Desenho experimental delineado para desenvolvimento do artigo 4, p. 121

SUMÁRIO

RESUMO, p. 7

ABSTRACT, p. 8

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, p. 9

1 INTRODUÇÃO, p. 12

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA, p. 14

2.1 POTENCIAL DA AQUICULTURA NACIONAL, p. 14

2.2 TILÁPIA DO NILO, p. 16

2.3 RESÍDUOS DE PRODUÇÃO, p. 18

2.4 APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS DE TILÁPIA, p. 20

2.5 ELABORAÇÃO DE NOVOS PRODUTOS A BASE DE RESÍDUOS DE PESCADO, p. 21

2.5.1 Cloreto de sódio e possíveis substitutos, p. 23

2.5.2 Transglutaminase, p. 25

2.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS, p. 27

2.6.1 Composição centesimal, p. 28

2.6.2 pH e Atividade de água, p. 29

2.6.3 Índice de absorção e solubilidade em água, p. 31

2.6.4 Dispersão de partículas, p. 32

2.7 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS, p. 33

2.7.1 Bactérias Heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotróficas, p. 34

2.7.2 Contagem de fungos, p. 35

2.7.3 Bactérias patogênicas, p. 36

2.8 MÉTODOS SENSORIAIS, p. 41

2.8.1 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), p. 43

2.8.2 Teste de aceitação e de intenção de consumo, p. 44

2.8.3 Just-About-Right, p. 46

2.9 MÉTODOS INSTRUMENTAIS, p. 48

2.9.1 Análise do perfil de cor, p. 48

2.9.2 Análise do perfil de textura, p. 49

3 DESENVOLVIMENTO, p. 50

3.1 ARTIGO 1: PREPARATION OF ADDED VALUE BYPRODUCTS FROM THE WASTE MATERIAL OF TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) PROCESSING. Published in Journal of Aquaculture Research & Development, v. 3, n. 5, p.1-5, 2012, p. 50

3.2 ARTIGO 2: PRODUCTS-BASED OF WASTES TILAPIA AS HEALTHY ALTERNATIVES FOR FOOD INDUSTRIES. Submitted to Food Science and Technology (Paper II), p. 62

3.3 ARTIGO 3: EFFECT OF TRANSGLUTAMINASE ON PHYSICAL, CHEMICAL, BACTERIOLOGICAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF A VALUE-ADDED TILAPIA STEAK PRODUCED FROM WASTES PROCESSING. Submitted to Food and Bioproducts Processing (Paper III), p. 90

3.4 ARTIGO 4: PARTIAL SODIUM REPLACEMENT IN VALUE-ADDED PRODUCT OF TILAPIA WITHOUT LOSS OF ACCEPTABILITY. Submitted to Journal of Food Science (Paper IV), p. 121

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES, p. 149

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p. 151

6 APÊNDICES, p. 167

6.1 PAPER I, p. 167

6.2 TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*), p. 172

6.3 FILÉS DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*), p. 173

6.4 RESÍDUOS DE CABEÇA E DE CARÇAÇA DE TILÁPIA DO NILO, p. 174

6.5 FARINHA DE CABEÇA, FARINHA E CARÇAÇA E FARINHA MISTA ELABORADA COM AMBOS OS RESÍDUOS, p. 175

6.6 SOPA INSTANTÂNEA DE TILÁPIA EM PÓ, p. 176

6.7 SOPA INSTANTÂNEA DE TILÁPIA RECONSTITUÍDA COM ÁGUA, p. 177

6.8 PRODUTOS REESTRUTURADOS DE TILÁPIA, p. 178

1 INTRODUÇÃO

A tilápia (*Oreochromis niloticus*) é, atualmente, a espécie que apresenta maiores índices de produção na aquicultura nacional, em função de características relativas à rusticidade, genética, reprodução e potencial mercadológico, sendo o filé a preferência de consumo da carne de tilápia pelos brasileiros e, portanto, o principal produto comercializado pelas indústrias que beneficiam esta espécie. Todavia, no processo de filetagem são gerados resíduos representados em especial pelas cabeças e carcaças, que comumente são descartados, tornando-se potenciais fontes poluidoras do meio ambiente, determinando grave problema ambiental. Além disso, devido à heterogeneidade de crescimento dos peixes, durante a despesca, pode ocorrer o descarte de animais que não atingem o tamanho comercial adequado e, conseqüentemente, comprometem a aceitação dos filés, os quais normalmente são subutilizados como resíduos de produção.

Desta forma, a elaboração de novos produtos com valor agregado pode ser uma alternativa tecnológica viável para minimização de tal perda econômica. O aproveitamento desses resíduos proporcionaria mais uma opção de renda para as indústrias, aumentando a lucratividade e representaria uma alternativa para solucionar a problemática do baixo consumo de pescado no Brasil, tendo em vista que a falta de praticidade e de padronização do produto no que diz respeito às características de sabor, presença ou não de espinhas, forma de preparo e valor nutricional determinam o principal entrave para o aumento do consumo dessa matriz alimentar. A indisponibilidade de produtos processados industrializados a base de pescado, em quantidade e qualidade, que sejam providos de praticidade e que apresentem maior validade comercial, também contribuem para o baixo consumo de pescado no país. Este fato está relacionado a uma tendência da sociedade moderna em preferir o consumo de produtos semi-prontos ou prontos denominados “ready to eat”.

Novos produtos elaborados a partir de resíduos de tilápia podem apresentar elevado potencial de comercialização e credibilidade mercadológica, devido a inserção nos contextos de funcionalidade, saudabilidade e sustentabilidade. Tendo em vista a utilização da enzima transglutaminase, a alternativa de redução do sal e a

minimização do impacto ambiental, o estudo em questão representa uma inovação na área de processamento tecnológico com enfoque no aproveitamento de resíduos oriundos da indústria de produtos da pesca. Ademais, tais produtos apresentam relevância sob o âmbito social, pelo fornecimento de novos produtos derivados de pescado com maior acessibilidade, fácil preparo, elevado valor nutritivo e baixo custo atendendo, portanto, a demanda dos atuais consumidores.

Desta forma, o objetivo geral do projeto foi desenvolver e avaliar analiticamente novos produtos com valor agregado elaborados a partir de resíduos de tilápia (*Oreochromis niloticus*).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 POTENCIAL DA AQUICULTURA NACIONAL

As possibilidades concretas de expansão do setor pesqueiro natural estão praticamente esgotadas, sendo a aquicultura uma alternativa para o suprimento deste mercado (EMBRAPA, 2005) que apresenta tendência crescente devido ao fato do pescado representar um alimento saudável de elevado interesse pela população em todas as faixas de renda (MPA, 2011).

Segundo Kubitza (2007) a exploração dos recursos pesqueiros apresentou um decréscimo superior a 30% (entre 1975 a 2005), enquanto a aquicultura vem tornando-se responsável pelo suprimento da demanda deste alimento, haja visto que tal atividade vem demonstrando um crescimento gradual, registrando os maiores valores em 2008, 2009 e 2010, com 365.367t, 415.649t e 479.398t, respectivamente (MAPA, 2012).

No Brasil, a aquicultura é uma atividade zootécnica que vêm se destacando como alternativa econômica para o pequeno e médio produtor, sendo propícia ao aproveitamento de áreas improdutivas, transformando-as e elevando sua potencialidade e produtividade (FIGUEIREDO; VALENTE, 2008). Ademais, o potencial brasileiro para o desenvolvimento da aquicultura é imenso, pois o país é constituído por 8.400 km de costa marítima, 5.500.000 hectares de reservatórios de águas doces, aproximadamente 12% da água doce disponível no planeta, clima extremamente favorável para o crescimento dos organismos cultivados, mão-de-obra abundante e crescente demanda por pescado no mercado interno (OLIVEIRA et al., 2006).

A aquicultura nacional é considerada uma atividade promissora e entre o período de 1990 e 2001 registrou um crescimento superior à média mundial, de aproximadamente 825%, enquanto a aquicultura mundial cresceu 187%. Neste mesmo período, o Brasil que se encontrava na 36ª colocação em 1990 ocupou a 19ª posição em 2001 (FAO, 2002).

Em 2007, o Brasil demonstrou um crescimento relativo de produção, a partir da aquicultura, de mais 10,2% em relação ao ano de 2006 (191.183,5 toneladas), produzindo 210.644,5 de toneladas. Desta totalidade, 209.812,0 toneladas faziam referência a peixes oriundos da piscicultura. As principais regiões produtoras de

peixes de cultivo em 2007 foram, por ordem decrescente, a região Sul (64.483,5 toneladas), Nordeste (43.915,5 toneladas), Centro-oeste (40.061,0 toneladas), Sudeste (35.214,0 toneladas) e, por último, a região Norte (26.138,0 toneladas), representando, 30,6%; 20,9%; 19,1%; 17,0% e 12,4%, respectivamente. Apesar disso, o Ceará permanecia na liderança dos estados, apresentando uma produção de 25.726,5 toneladas. As principais espécies de peixes utilizadas na aquicultura destas regiões eram: tilápia, carpa, tambaqui, tambacu e curimatã. Neste mesmo ano, na região Sudeste, o estado de São Paulo, foi pontuado como maior produtor (23.209,0 toneladas), seguido por Minas Gerais (6.483,0 toneladas) e Espírito Santo (3.737,0 toneladas) (IBAMA, 2007).

Em 2010, a produção aquícola nacional foi de 479.399 t representando um incremento de 15,3% em relação à produção de 2009. Seguindo a tendência de anos anteriores, a maior parcela da produção aquícola foi oriunda da piscicultura que representou 82,3% da produção total nacional. Em 2010, a Região Sul foi novamente a que assinalou a maior produção de pescado do país, com 133.425,1 toneladas, respondendo por 33,8% da produção aquícola nacional. Em seguida, por ordem decrescente, as principais regiões produtoras de peixes provenientes de cultivo foram nordeste, sudeste, centro-oeste e norte registrando produção de 78.578,5t, 70.915,2t, 69.840,1t e 41.481,1t, respectivamente. A análise da produção nacional de pescado por Unidade da Federação em 2010 demonstrou que todos os estados brasileiros apresentaram um incremento na produção de origem aquícola de 2009 para 2010. Nesse contexto, destaca-se o Rio de Janeiro que apresentou um incremento de 53% na produção (MPA, 2012).

Segundo dados da FAO (2006) a taxa de crescimento/ano da aquicultura supera todas as outras atividades zootécnicas e, nesse contexto, o Brasil apresenta crescimento superior a 25% ao ano. Este cenário de crescimento pode ser atrelado ao desenvolvimento do setor aquícola em consequência a ampliação de políticas públicas que facilitaram o acesso aos programas governamentais existentes, tais como o Plano Mais Pesca e Aquicultura desenvolvido pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA, 2012). No entanto, embora o Brasil apresente condições de produzir, de maneira sustentável, 20 milhões de toneladas de pescados por ano, o principal entrave para o país alcançar posição de destaque na aquicultura mundial, é a baixa competitividade para exportação, especialmente de tilápias, necessitando,

portanto, de investimentos no setor e consolidação do segmento como ocorreu na área de frigoríficos de carne bovina (MENDES; VELOSO, 2012).

Scorvo Filho (2006) relatou que haveria necessidade de intensificar a produção e elevar a aquisição de equipamentos (nesta época ainda importados em sua maioria) para que a produção de pescado oriundo de cultivo alcançasse 1 milhão de toneladas. Além disso, relatou que o aumento da produção aquícola fosse estabelecido em associação a um concreto desenvolvimento sustentável da atividade e dos setores vinculados à cadeia de produção, proporcionando melhoria na qualidade de vida de todos aqueles, que, direta ou indiretamente, estivessem envolvidos com o setor. Atualmente, existe uma tendência crescente de intensificação e fortalecimento de integração entre os setores pesqueiros, especialmente, em decorrência da demanda crescente por produtos com elevado valor nutritivo como aqueles preparados a base de pescado. Desta forma, torna-se necessária a realização de pesquisas direcionadas para obtenção de uma produção cada vez mais eficiente e sustentável (REIS NETO, 2012).

2.2 TILÁPIA DO NILO

As tilápias apresentam escamas grandes, pouco brilhantes, listras nítidas verticais, colorações esbranquiçadas no ventre e prateada no dorso (LUND; FIGUEIRA, 1989). Além disso, possuem hábito alimentar fitoplanctófago, tendendo a onívoro (BARROS et al., 2002) e, a temperatura da água de cultivo, pode variar de 20 a 30°C, embora possa tolerar temperaturas de aproximadamente 12°C (ZIMMERMANN, 2004).

No Brasil, introduziu-se inicialmente a Tilápia *rendalli* em açudes do Nordeste, a qual, devido ao baixo desempenho em termos de crescimento foi substituída gradativamente pela tilápia do Nilo devido a características essenciais para a piscicultura como fácil adaptação a diversos tipos de criação, precocidade da maturação sexual e elevado índice de conversão alimentar (FITZSIMMONS; MARTINEZ-GARCIA; GONZALES-ALANIS, 2011; MARENGONI, 2006; PEREIRA; CARVALHO; SILVA, 2000). Dentre as diversas espécies existentes, as tilápias do Nilo são originárias da África, pertencentes à família *Cichlidae*, gênero *Oreochromis* e espécie *Oreochromis niloticus* (LUND; FIGUEIRA, 1989).

Em 1971, a referida espécie foi introduzida no Nordeste do Brasil, sendo o estoque formado por 60 indivíduos provenientes da Estação de Piscicultura de Bouaké, Costa do Marfim, África, por meio do DNOCS (Departamento Nacional de Obras Contra as Secas), em Pentecostes, estado do Ceará (SIMÕES et al., 2007).

Na década de 80 as tilápias foram taxonomicamente agrupadas em três gêneros principais, de acordo com suas características reprodutivas: *Oreochromis*, *Sarotherodon* e Tilápia. No entanto, apenas quatro espécies do gênero *Oreochromis* atingiram destaque na aquicultura mundial: a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*); a tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicu*); a tilápia azul ou áurea (*Oreochromis aureus*) e a tilápia de Zanzibar (*Oreochromis urolepis hornorum*) (KUBITZA, 2000). Neste mesmo período, surgiram os empreendimentos pioneiros e a tilapicultura firmou-se como atividade empresarial no país. O Paraná foi o primeiro estado brasileiro a promover uma organização racional desta atividade, inclusive com a implantação de frigoríficos especializados no beneficiamento dessa espécie, tornando-se rapidamente o maior estado produtor (FIGUEIREDO; VALENTE, 2008).

Atualmente, o ciclo de produção da tilápia inicia-se com os alevinos até atingirem em média 30 gramas e, em seguida, tem-se a fase de engorda e, posteriormente, o abate (SEBRAE, 2008). A tilápia do Nilo é comercializada com peso entre 400 a 700 g, variando em função do mercado consumidor. O tempo necessário para que atinja o tamanho comercial pode variar de cerca de quatro meses a um ano, em função de uma série de fatores, como o tipo de alimentação, temperatura, qualidade da água de cultivo, densidade de estocagem, entre outros (LEITE, 2009).

Não obstante a diversidade de espécies, a tilápia do Nilo (Apêndice 6.2) é a espécie mais cultivada no Brasil devido a elevada produtividade, precocidade, adaptabilidade em diversas condições ambientais, excelente conversão alimentar, pouca susceptibilidade a doenças parasitárias e elevada resistência a baixas concentrações de oxigênio (FIGUEIREDO; VALENTE, 2008; FITZSIMMONS; MARTINEZ-GARCIA; GONZALES-ALANIS, 2011; MARENGONI, 2006; SCORVO FILHO, 2006; WAGNER et al., 2004). Além disso, a referida espécie possui carne de qualidade superior, tais como ausência de espinhas em “Y”, carne branca de textura firme, sabor delicado e agradável (CONTE, 2002), resultando em elevada aceitação dos consumidores no mercado nacional e internacional (PEREIRA; GAMEIRO, 2007).

Em relação ao valor nutritivo, o filé de tilápia do Nilo (Apêndice 6.3) possui em média 75% de água, entre 3,4 a 8,5% de lipídeos, 20% de proteína e 2% de minerais, sendo que a composição nutricional pode variar em função da composição da dieta, do manejo alimentar, da idade e do tamanho dos peixes (SIQUEIRA, 2001).

Atualmente, a tilápia (*Oreochromis niloticus*) é a espécie mais cultivada no Brasil, podendo ser produzida em praticamente todo o território nacional. Em 2010, representou 39,4% do total de pescado proveniente da piscicultura nacional, totalizando 155.450 toneladas, ultrapassando a produção de carpas que contribuiu com 94.579 toneladas neste mesmo ano (MPA, 2012).

2.3 RESÍDUOS DE PRODUÇÃO

Relatos de 2001 já consideravam que as indústrias de beneficiamento de pescado geravam quantidades expressivas de resíduos, devido principalmente à falta de reconhecimento deste recurso como matéria prima e fonte para outros produtos (PESSATTI, 2001). Boscolo e Feiden (2007) relataram que resíduos de pescado representavam cerca de 2/3 do volume da matéria-prima da indústria, constituindo grave problema ambiental. Uma alternativa viável para o aproveitamento dos resíduos foi historicamente a produção de farinha de pescado, amplamente empregada na aquicultura, como principal fonte protéica nas rações para a maioria das espécies cultivadas (GALDIOLI et al., 2001).

Em escala reduzida, a elaboração de couro, a partir de peles residuais do processo de filetagem de pescado para a fabricação de carteiras, bolsas, confecções de vestuários, entre outros artefatos, representa há alguns anos, uma fonte alternativa de renda que para as indústrias e entrepostos pesqueiros (SOUZA et al., 2003).

Além do aproveitamento dos resíduos destinado ao consumo animal e a produção de artefatos, tais resíduos podem ainda ser transformados em ingredientes para incorporação nos alimentos (BOSCOLO; FEIDEN, 2007), reduzindo o impacto ambiental e aumentando a lucratividade de indústrias de pescado (CARVALHO FILHO, 2008; ROCHA, 2011). Ademais, os produtos elaborados a partir de resíduos de pescado podem ser, direta ou indiretamente, aproveitados para enriquecer ou suplementar a merenda escolar, sendo uma alternativa de baixo custo e viável para

solucionar problemas de desnutrição entre as crianças de baixa renda (ROCHA, 2011).

Todavia, no Brasil, em torno de 50% de resíduos eram 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 (PESSATTI, 2001). Segundo Stori; Bonilha e Pessatti (2002), 68% destes resíduos eram encaminhados às indústrias de farinha de pescado, 23% encaminhados ao aterro sanitário municipal e 9% despejados diretamente nos rios, constituindo assim um grave impacto ambiental.

O aproveitamento de resíduos de pescado para elaboração de produtos, segundo pontuava De Souza (2002), já representava uma alternativa para solucionar a problemática do baixo consumo de pescado no Brasil, tendo em vista que a falta de praticidade e de padronização do produto no que diz respeito às características de sabor, presença ou não de espinhas, forma de preparo e valor nutricional determinavam o principal entrave para o aumento do consumo dessa matriz alimentar.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o consumo anual de pescado de pelo menos 12 quilos por habitante/ano (WHO, 2007a). Entretanto, no Brasil, o consumo *per capita* é considerado baixo (PEIREIRA et al., 2010). Em 2010, o consumo *per capita* de pescado no país foi de 9,75 Kg/hab./ano, com crescimento de 8% em relação ao ano anterior (MPA, 2012). No entanto, este consumo é bastante variável de acordo com as regiões do país, condições geográficas, clima, aspectos socioeconômicos e culturais locais, havendo predominância de consumo na região Norte, principalmente de peixes de água doce e por população de menor renda (PEREIRA et al., 2010).

Vale ressaltar que, dentre os consumidores brasileiros de peixes, as crianças são aquelas que representam a parcela com o menor consumo de pescado, e, portanto, onde é necessário um trabalho de educação nutricional visando estimular o consumo desta matriz, com a finalidade de melhorar a qualidade da dieta deste grupo de indivíduos. Portanto, a inclusão de novos produtos a base de pescado na merenda escolar representa uma excelente alternativa para o aumento de consumo de carne de peixe (GODOY et al., 2010).

Diante deste cenário, a criação de alternativas tecnológicas, com valor agregado que permitam o gerenciamento dos resíduos de pescado constitui uma

atividade promissora devido a benefícios como combate à fome, a geração de empregos e o desenvolvimento sustentável (SIMÕES et al., 2007). Segundo Oliveira et al. (2006), simultaneamente ao avanço da atividade aquícola, devido ao surgimento de indústrias de beneficiamento, o processo de industrialização de pescado tem crescido de forma constante visando o aprimoramento no processo de obtenção de diferentes apresentações do pescado ao mercado consumidor.

Baseado nesses aspectos, a tendência atual baseia-se na elaboração de diversos produtos como linguças, apresuntados, nuggets, hambúrgueres, que acrescentados de ingredientes como sal, farinha de trigo, especiarias e outros, resultam em alimentos com excelentes características sensoriais e nutricionais (RIBEIRO et al., 2008; XAVIER, 2009).

2.4 APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS DE TILÁPIA

A tilápia (*Oreochromis niloticus*) é, atualmente, a espécie que apresenta maiores índices de produção na aquicultura nacional, devido as suas características rústicas, genéticas, reprodutivas e mercadológicas. Os principais produtos comercializados desta espécie são peixes inteiros congelados e, principalmente, os filés que representam a preferência de consumo da carne de tilápia pelo mercado consumidor nacional e internacional (BOSCOLO; FEIDEN, 2007). Entretanto, apesar dos diversos aspectos positivos relativos ao cultivo de tilápia, uma das características indesejáveis desta espécie é o baixo rendimento de filé (FITZSIMMONS; MARTINEZ-GARCIA; GONZALES-ALANIS, 2011). Embora este rendimento dependa da eficiência manual do operário ou, de equipamentos caso a filetagem seja automatizada, da forma anatômica do corpo, do tamanho do peixe bem como do peso das vísceras, pele e nadadeira, os filés e resíduos representavam aproximadamente 35% e 65% do processamento de tilápia, respectivamente (BOSCOLO; FEIDEN, 2007).

Além disso, devido à heterogeneidade de crescimento dos peixes, durante a despesca, pode ocorrer o descarte de animais que não atingem o tamanho comercial adequado e, conseqüentemente, comprometem a aceitação dos filés, os quais normalmente são subutilizados como resíduos de produção. Normalmente, esses grupos heterogêneos representam de 12 a 14% durante a despesca de tilápias (LIMA, 2008).

Em contrapartida, esses resíduos apresentam alto teor de proteínas, minerais e lipídeos, incluindo ácidos graxos essenciais, principalmente da série ômega-3, como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o docosahexaenóico (DHA), responsáveis por diversos efeitos benéficos à saúde humana, como diminuição dos riscos de doenças cardiovasculares, diminuição nas taxas de colesterol no sangue, prevenção de câncer, dentre outros (STEVANATO et al., 2007).

É importante salientar que a indisponibilidade de produtos processados industrializados a base de pescado, em quantidade e qualidade, que sejam providos de praticidade e que apresentem maior validade comercial, contribuem para o baixo consumo de pescado no país (BOMBARDELLI; SYPPERRECK; SANCHES, 2005).

Nesse contexto, a industrialização do pescado no Brasil estaria efetivamente concentrada em um número reduzido de espécies, no qual as tilápias iriam constituir o grupo de peixes mais explorados, e exigiria maior profissionalização por parte dos produtores (KUBITZA, 2000). Desta forma, pesquisadores têm direcionado os estudos para elaboração de novos produtos derivados de pescado a base de resíduos de tilápia (BARTOLOMEU, 2011; FERNANDES; PINTO; BONNAS, 2011; KIRSCHNIK, 2007; LIMA; HENRIQUES; CARDONHA, 2009; MARENGONI et al., 2009; MINOZZO; WASZCZYNSKYJ; BOSCOL, 2008; OLIVEIRA; CRUZ; ALMEIDA, 2012; OLIVEIRA FILHO et al., 2010; ROCHA, 2011; SANTA ROSA, 2009; SARY et al., 2009; STEVANATO et al., 2007; VAZ, 2005), minimizando perdas econômicas de indústrias e entrepostos e reunindo todos os atributos exigidos pelos consumidores atuais (BOSCOLO; FEIDEN, 2007; DE SOUZA, 2002).

2.5 ELABORAÇÃO DE NOVOS PRODUTOS A BASE DE RESÍDUOS DE PESCADO

A sociedade moderna está direcionada ao consumo de produtos semi-prontos ou prontos denominados “ready to eat”, mas que possuam elevado valor nutritivo, custos acessíveis, boa apresentação e embalagem de qualidade (SANTOS et al., 2011). Ultimamente há evidências de uma maior preocupação com a saúde e meio ambiente destacando-se entre os consumidores (GERHARDT et al., 2012).

Neste contexto, a elaboração de novos produtos a base de resíduos de pescado poderia representar uma alternativa tecnológica viável, tendo em vista que o pescado é historicamente associado a alimento saudável (MPA, 2011), permitindo

inclusive, a utilização de informações nutricionais nos rótulos como, por exemplo, excelente fonte de ômega-3 (STEVANATO et al., 2007), caracterizando apelo nutricional que determina interesse e escolha dos consumidores (LUNELLI et al., 2006).

Ademais, empresas alimentícias poderiam realizar investimentos em estratégias de “marketing” as quais, possivelmente, estariam relacionadas à produção dos denominados “rótulos verdes”, facilitando o acesso dos consumidores à informação e integrando apelos ambientais à decisão dos mesmos, possibilitando superior valorização dos atributos de um determinado produto (KIRCHHOFF, 2000). Conforme já relatava Corrêa (1998), a importância dos programas de rotulagem ambiental é inegável, pois orientam os consumidores e induzem os fabricantes a mudarem suas práticas produtivas.

Desta forma, torna-se atrativa e lucrativa a inclusão de novos produtos no mercado que estejam inseridos no contexto de praticidade, saudabilidade e sustentabilidade, fato que pode ser alcançado a partir da utilização de resíduos de pescado, principalmente, de tilápia que, atualmente, apresenta maiores índices de produção na aquicultura nacional (MPA, 2012). Diante deste cenário, diversos produtos a base de resíduos de tilápia são descritos na literatura como biscoitos (ROCHA, 2011), empanados (FERNANDES; PINTO; BONNAS, 2011; KIRSCHNIK, 2007), salsicha (OLIVEIRA FILHO et al., 2010), fishburgers (MARENGONI et al., 2009), quibe (SANTA ROSA, 2009), patês (MINOZZO; WASZCZYNSKYJ; BOSCOL, 2008), bolinho de tilápia (SARY et al., 2009), caldo de tilápia (STEVANATO et al., 2007), linguiça fresca “tipo toscana” (VAZ, 2005), hambúrguer (LIMA; HENRIQUES; CARDONHA, 2009), almôndegas (OLIVEIRA; CRUZ; ALMEIDA, 2012) e embutido defumado “tipo mortadela” (BARTOLOMEU, 2011).

Recentemente, pesquisadores têm estudado produtos de tilápia, filés e farinhas (ADELEKE; ODEDEJI, 2010; SHANKAR et al., 2010; VEIT et al., 2012), como alternativa de inserção parcial em alimentos amplamente consumidos visando o enriquecimento nutricional dos mesmos. Shankar et al. (2010) avaliaram a inclusão de 5 a 20% de farinha de tilápia em pães, enquanto Veit et al. (2012) estudaram a adição de 20% e 12% de filés de tilápia cozidos e triturados em bolo de chocolate e cenoura, respectivamente. Ambos os autores concluíram que os produtos estudados obtiveram índices de aceitabilidade satisfatórios e incremento no valor nutricional.

2.5.1 Cloreto de sódio e possíveis substitutos

O sal teve papel central na economia de diversas regiões, onde toda a população dependia, direta ou indiretamente, desse produto. No século XIV, o surgimento do arenque salgado, uma espécie da família Clupeidae, aumentou o comércio de sal no noroeste da Europa, promovendo a concentração de salinas ao redor dos portos dessa região. Nos séculos XVII e XVIII, a Grã-Bretanha tornou-se o maior produtor e comerciante de sal, favorecida pela indústria naval, pela descoberta de carvão como fonte de energia e pelo suprimento de sal para as colônias. Além disso, Charles d'Anjou, filho de Luiz VIII da França, com a finalidade de custear aventuras militares, guerras e revoluções introduziu o imposto sobre o sal, o qual foi considerado uma das causas da Revolução Francesa, quando o mesmo foi suprimido pelo governo revolucionário. Todavia, o imposto foi restabelecido em 1805, com o objetivo de arrecadar fundos para o financiamento da guerra (HEIMANN, 2000).

Durante o século XX até o final dos anos 60 ocorreu a evolução da exploração salineira que foi caracterizada por períodos alternados de estagnação e incremento de acordo com o ritmo das conjunturas económicas e sociais. Todavia, o período nobre desta atividade ocorreu entre o final dos anos 50 e meados de 60 quando os processos de conservação de alimentos a nível doméstico e industrial baseavam-se em utilização abundante do sal como conservante, ocorrendo ainda o incremento do tradicional mercado colônia (NEVES, 2005).

Com relação ao teor de sódio na dieta, Phillips (2003) afirmou que o consumo de carne em diferentes preparações gastronômicas e de produtos cárneos processados constitui o principal responsável pela elevada ingestão de sódio contribuindo com aproximadamente 20,8% desta, o que corresponde a 0,54g de sódio ou a 1,38g de sal por dia. A Organização Mundial da Saúde recomenda a ingestão de 2g de sódio/dia, o equivalente a 5g de sal/dia para adultos, entretanto, geralmente os consumidores ingerem quantidades de sódio superiores ao fisiologicamente necessário (WHO, 2007b). Segundo Mancina et al. (2007), a maior parte das sociedades ocidentais consome, em média, cerca do dobro dessa quantidade.

Portanto, atualmente, o grande desafio da indústria cárnea é a reformulação de produtos através da substituição de ingredientes como, por exemplo, o cloreto de

sódio como uma alternativa de reduzir a associação que os consumidores estabelecem entre o consumo de produtos cárneos e problemas de saúde como a hipertensão. Contudo, a redução do sal em produtos cárneos representa grande dificuldade para as indústrias devido à diminuição da percepção de salinidade e intensidade do sabor característico quando o cloreto de sódio é reduzido. Ademais, o sal desempenha diversas funções relevantes nos produtos cárneos como ação conservante e aumento da capacidade de retenção de água das proteínas, reduzindo, portanto, perdas de água durante a estocagem. Desta forma, torna-se necessária consideração cuidadosa para elaborar alimentos reduzidos de cloreto de sódio (RUUSUNEN; POULANNE, 2004).

Neste contexto pesquisadores tem direcionado os estudos para utilização de substitutos de sal em produtos cárneos como, por exemplo, o cloreto de potássio (KCl) e o cloreto de magnésio (Mg_2Cl) (ALIÑO et al., 2010; ALIÑO et al., 2011).

O potássio representa um elemento mineral importante na regulação da pressão arterial, principalmente, devido sua capacidade de facilitar a excreção renal do sódio (GELEIJNSE; KOK; GROBBEE, 2003). Conforme os mesmos autores, um aumento de 1,8 a 1,9 g/dia na ingestão de potássio reduz aproximadamente 4 e 2,5 mmHg as pressões sistólica e diastólica, respectivamente, em indivíduos hipertensos. Além disso, o cloreto de potássio é reconhecido como ingrediente seguro e possui propriedades similares ao cloreto de sódio, podendo ser utilizado na sua substituição sem perda da funcionalidade. Entretanto, o KCl possui sabor amargo, fato que provoca uma restrição em relação a adição deste em produtos cárneos, sendo a concentração de 1% considerada como o limite máximo de utilização. Contudo, a aplicação do cloreto de potássio como um substituto parcial do cloreto de sódio representa uma alternativa viável para elaboração de produtos mais aceitáveis, devido à tendência crescente da demanda por alimentos mais saudáveis (COLLINS, 1997).

Igualmente ao potássio, o magnésio possui uma capacidade reguladora da pressão arterial, sendo tal função atribuída aos seus efeitos vasodilatadores (JEE et al., 2002), todavia, também promove aumento da excreção do excesso de sódio (AKITA et al., 2003). Ademais, o magnésio reduz o risco de osteoporose uma vez que o osso representa o principal reservatório de concentração de magnésio extracelular no corpo humano (MARTINI, 1999).

Segundo relatos de Horita et al. (2011) os cloretos de potássio e magnésio podem ser utilizados como substitutos do cloreto de sódio para o desenvolvimento de produtos com superior saudabilidade. No entanto, a concentração desses sais nas formulações dos produtos necessitam ser otimizadas com a finalidade de manter as características dos alimentos elaborados com o sal.

2.5.2 Transglutaminase

A enzima transglutaminase pode ser encontrada tanto em animais como em plantas (FALCONE; SERAFINI-FRACASSINI; DEL DUCA, 1993) e em microrganismos (ANDO et al., 1989). Nos anos 60, foram realizados diversos estudos sobre os processos de purificação, caracterização e aplicação da transglutaminase de origem animal, principalmente a partir de fígado de suíno (LARRE et al., 1992) a qual foi comercializada durante décadas. Entretanto, o complexo processo de separação e purificação da transglutaminase a partir de suínos, resultou em elevado custo desta enzima, fato que impossibilitou a utilização em produtos alimentícios. Desta forma, as pesquisas foram direcionadas para transglutaminase de origem microbiana (ANDO et al., 1989). No entanto, a produção de transglutaminase microbiana não foi relatada até o final dos anos 80. A partir deste período, a transglutaminase microbiana foi relatada sendo produzida através de microrganismos como *Streptoverticillium ladakanum* e *Streptoverticillium mobaraense* (JIANG; LEU; TSAI, 1998).

Yan et al. (2005) relataram que linhagens do gênero *Streptoverticillium* tem capacidade de produzir esta enzima em elevadas quantidades devido ao tipo de crescimento micelial no meio de cultura, que é característico deste gênero. Em relação à atividade da enzima, a transglutaminase de origem microbiana é capaz de exercer o mecanismo de ação de forma tão eficiente quanto à enzima de origem animal. A principal vantagem da transglutaminase microbiana quando comparada a outras fontes da enzima é possuir peso molecular relativamente baixo, produção extracelular e ser cálcio independente, características relevantes para aplicação industrial (YOKOYAMA; NIO; KIKUCHI, 2004).

A transglutaminase de origem microbiana (TGM) possui 331 aminoácidos contendo um único resíduo de cisteína com um grupo tiol livre que é essencial para sua atividade catalítica, além de indicar que esta enzima inclui-se na família das tiol-

proteases. Possui conformação globular, tipicamente de proteínas secretórias, sendo caracterizada como uma enzima hidrofílica, embora apresente diversas regiões hidrofóbicas distribuídas em intervalos específicos ao longo da cadeia (KANAJI et al., 1993).

O mecanismo de ação da referida enzima baseia-se na capacidade de catalisar ligações cruzadas intra e intermoleculares em proteínas, peptídeos e várias aminas primárias, principalmente através de ligações covalentes entre resíduos de glutamina e lisina, promovendo a formação de uma rede de ligações covalentes e transformando a matriz alimentar muscular em um polímero de elevado peso molecular, fato que provoca o aprisionamento de moléculas de água (OHTSUKA et al., 2001). Portanto, a transglutaminase microbiana possui a capacidade de melhorar as características funcionais das proteínas, promovendo a adesão de partículas de carne sem necessidade de extração das proteínas miofibrilares em temperaturas abaixo de 10°C. A actina e miosina, dentre diversas outras proteínas, são substratos específicos para esta enzima, podendo, desta maneira, ser utilizada em produtos cárneos, especialmente, para elaboração de produtos reestruturados (MOTOKI; KUMAZAWA, 2000). Proteínas contendo diversas estruturas aleatórias (caseína) bem como diversos resíduos de lisina e glutamina (proteínas de soja e de trigo) são excelentes substratos para ação desta enzima. Contudo, a reatividade das proteínas pode ser otimizada por aquecimento ou alteração de pH com a finalidade de provocar uma desnaturação parcial na conformação dos substratos (SAKAMOTO; KUMAZAWA; MOTOKI, 1994).

A transglutaminase é altamente ativa em uma ampla faixa de pH (5 a 8). A atividade desta enzima permanece estável até aproximadamente 50°C, sendo reduzida gradualmente em temperaturas mais elevadas, porém, binômio tempo e temperatura necessários para sua inativação são dependentes de cada tipo de produto (PAULINO et al., 2006). A transglutaminase é indicada para melhorar ou modificar as propriedades reológicas dos alimentos, podendo ser amplamente utilizada em leite, soja, ovo, carne bovina, suína, aves e pescado (PIETRASIK, 2003) com a finalidade de reduzir custos das indústrias a partir do aproveitamento de cortes sem valor comercial (ALMEIDA, 2010).

Uma grande vantagem tecnológica da transglutaminase de origem microbiana em relação à enzima de origem animal é a ação independente da presença de Ca^{2+} , pois facilita a aplicação da enzima nas indústrias. Além disso,

esta enzima pode ser aplicada em uma ampla diversidade de matrizes alimentares; pode ser utilizada em combinação com outros ingredientes como sal, fosfatos alcalinos e sais de cura, possui fácil aplicação, e possibilita a elaboração de produtos reestruturados permitindo elevado aproveitamento de carne; sem a necessidade da aplicação de métodos de congelamento e/ou aquecimento para manter a integridade do produto (KEETON, 2001).

Segundo informação pessoal do químico responsável pelo setor de Controle de Qualidade da empresa AJINOMOTO a transglutaminase microbiana pode gerar alterações negativas na textura e aparência dos alimentos quando utilizada em excesso, desta forma, geralmente obtêm-se as vantagens tecnológicas da enzima utilizando-se pouca quantidade. Corroborando com essa afirmação, Moreno; Carballo e Borderías (2010) estudaram o efeito de 0,5% e 1,0% de transglutaminase microbiana em produtos reestruturados de merluza e concluíram que a concentração inferior foi suficiente para melhorar os atributos de textura e suculência dos produtos.

Com relação aos aspectos ligados a legislação, no Brasil a Resolução RDC nº 348, de 02 de Dezembro de 2003 da ANVISA inclui a transglutaminase entre as enzimas permitidas para uso nas indústrias de alimentos, em concentração suficiente para o efeito desejado, sem especificar o limite máximo permitido e sem necessidade de descrição do uso no rótulo dos produtos (BRASIL, 2003). Órgãos internacionais consideram a transglutaminase como um aditivo geralmente conhecido como seguro, tradução do inglês “Generally Recognized As Safe - GRAS” (FDA, 2001). Todavia, Kaufmanna; Köppela e Widmera (2012) afirmam que quando utilizada em alimentos a transglutaminase deve constar no rótulo do produto, para conhecimento e clareza com os consumidores.

Em relação à análise de transglutaminase nos produtos, pesquisadores propuseram recentemente a detecção da transglutaminase por espectrometria de massas, com etapa de digestão prévia, separação e detecção por LC-MS/MS (KAUFMANNA; KÖPPELA; WIDMERA, 2012).

2.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas são realizadas com a finalidade de pesquisar fraudes, aditivos alimentares, resíduos de fármacos em determinados alimentos, avaliar a adequação dos produtos com o Padrão de Identidade e Qualidade– PIQ e

com a rotulagem nutricional bem como verificar alterações físico-químicas a partir de compostos oriundos do processo de degradação, incluindo a caracterização sensorial. Desta forma, a realização de análises físico-químicas permite a prevenção de doenças e o descarte de produtos fora dos padrões os quais proporcionariam grave risco à saúde dos consumidores, caracterizando, portanto, relevância sob o ponto de vista de saúde coletiva (ANDRADE, 2012).

Ademais, as análises físico-químicas possibilitam a caracterização de diversos produtos em relação às propriedades tecnológicas como, por exemplo, viscosidade, tamanho de partícula, textura, índice de absorção e solubilidade em água, principalmente em ingredientes em pó, os quais representam elevada importância para indústria alimentícia devido a propriedades como elevada estabilidade química e microbiológica bem como facilidade de manipulação, estocagem e transporte (CEREDA, 2002; EDUARDO; LANNES, 2007).

2.6.1 Composição centesimal

O conhecimento da composição dos alimentos é fundamental para se alcançar a segurança alimentar e nutricional, fornecendo, portanto, informações básicas para a educação nutricional, o controle da qualidade dos alimentos e a avaliação da ingestão de nutrientes de indivíduos ou populações. Ademais, dados sobre composição dos alimentos podem orientar a produção agrícola e as indústrias de alimentos no desenvolvimento de novos produtos, auxiliar os consumidores na escolha dos alimentos a partir da rotulagem nutricional, apoiar políticas de proteção ao meio ambiente e de biodiversidade bem como fornecer subsídios aos epidemiologistas que estudam a relação entre a dieta e os riscos de doenças ou a profissionais para a prática clínica (TACO, 2011).

Segundo Lajolo (1995) informações da composição química de nutrientes em alimentos são extremamente relevantes para o estabelecimento de dietas adequadas aos indivíduos, para a recomendação de uma alimentação balanceada a grupos populacionais e desenvolvimento de novos produtos.

Adicionalmente, dados sobre a composição dos alimentos podem favorecer a comercialização nacional e internacional de produtos baseando-se no atual cenário de um mercado altamente globalizado e competitivo. Entretanto, para evitar decisões ou conclusões equivocadas, as informações nutricionais contidas nas

tabelas precisam ser confiáveis, atualizadas e mais completas possíveis, sendo realizadas análises originais de acordo com plano de amostragem representativo e métodos validados. Além disso, a construção de um banco de dados nutricionais dos alimentos consiste em um processo dinâmico e contínuo devido aos avanços nas metodologias analíticas, ao melhoramento genético tradicional ou moderno de vegetais e animais, as mudanças de hábito da população e aos constantes lançamentos de novos produtos no mercado (TACO, 2011).

2.6.2 pH e Atividade de água

O pH consiste na concentração de íons de hidrogênio e seus valores podem variar entre 0 a 14, sendo considerado meio ácido quando os valores encontram-se abaixo de 7, e meio básico quando os mesmos apresentam-se acima de 7 (IAL, 2008). Alterações de pH no pescado são ocasionadas pela decomposição das moléculas, pois a atividade enzimática e a ação das bactérias alteram a concentração de íons hidrogênio livre (OGAWA; MAIA, 1999).

Imediatamente após a morte, o pescado se encontra na fase de *pré-rigor mortis*, com duração de 1 a 2 horas, onde o glicogênio e o Adenosina Trifosfato (ATP) estão combinados com a miosina, conferindo ao peixe uma carne macia com pH médio de 7,0 (SBRT, 2013). Após este período, inicia-se o denominado *rigor mortis*, caracterizado pelo progressivo enrijecimento do corpo do peixe devido à redução dos níveis de ATP na musculatura (KUBITZA, 2000). Segundo Barros (2003), é nesta fase que o pescado se encontra no máximo grau de frescor ou qualidade, devido ao pH ácido que é desfavorável à ação microbiana e possibilita o controle da ação enzimática.

Kubitza (2000) relata que a duração do *rigor mortis* é variável e depende de fatores como manejo, captura, higiene e temperatura ambiente. Peixes submetidos a um intenso estresse pré-abate apresentam curto período de *rigor mortis*, pois nesta condição, ocorre uma redução nas reservas de glicogênio, com menor acúmulo de ácido láctico na musculatura. Desta forma, o pH da carne fica próximo à neutralidade, acelerando a ação das enzimas musculares, o desenvolvimento de bactérias e, conseqüentemente, a degradação da carne. Portanto, com a finalidade de obtenção de um pescado com elevada validade comercial após o processamento, torna-se interessante estender ao máximo o período de *rigor mortis*. Oetterer (1999)

recomenda que o abate seja feito imediatamente após a captura, evitando a perda das reservas energéticas dos peixes.

Em seguida a fase de rigor, no momento em que a actomiosina é degradada por enzimas proteolíticas, como a catepsina, instala-se a fase de *post rigor*. Neste momento, ocorre o amolecimento da carne e, devido à hidrólise protéica, ocorre a formação de peptídeos e aminoácidos livres, que permitem a rápida ação dos microrganismos endógenos e exógenos, dando origem a substâncias nitrogenadas voláteis, ocasionando o aumento gradativo do pH (SBRT, 2013).

Em relação à legislação nacional, o RIISPOA (BRASIL, 1952) estabelece que o pH da carne externa do pescado deve ser inferior a 6,8 e o pH da carne interna inferior a 6,5. Entretanto, tais valores necessitam ser revistos cuidadosamente, tendo em vista que os valores de pH diferem marcadamente de acordo com o tipo de pescado e com a época do ano (SIQUEIRA, 2001).

As metodologias que avaliam o pH são colorimétricas ou eletrométricas. Nos processos colorimétricos são utilizados determinados indicadores que produzem ou alteram a coloração de acordo com a concentração de íons de hidrogênio. Contudo esta mensuração possui aplicação limitada, pois as medidas são estimativas. Em contrapartida, nos processos eletrométricos são empregados potenciômetros os quais permitem uma determinação direta, simples e precisa do pH (IAL, 2008).

A atividade de água (A_w) pode ser considerada como o grau de disponibilidade de água em um alimento (GUILBERT, MORIN, 1986). Normalmente, o valor da A_w está relacionado à seguinte equação:

$$A_w = \frac{P}{P_0}$$

Onde P é a pressão de vapor de água no alimento e P_0 é a pressão de vapor da água pura (COULTATE, 2002).

A importância da mensuração da A_w baseia-se na disponibilidade de água para o acontecimento de reações químicas e para o crescimento de microrganismos. Embora seja necessária a realização de pesquisas específicas para cada tipo de alimento, geralmente, a velocidade das reações químicas é diminuída quando a A_w é reduzida, sendo as mesmas praticamente inibidas quando o valor da A_w encontra-se abaixo de 0,2, com exceção da oxidação de lipídeos (VAN DEN BERG; BRUIN, 1981).

Em relação aos microrganismos, os fungos representam o grupo microbiano mais resistente à redução da atividade de água, sendo os principais responsáveis pelo processo de deterioração em alimentos em baixa faixa de atividade de água (0,61 a 0,7) (BEUCHAT; COUSIN, 2001). Todavia, em farinhas Shankar et al. (2010) afirmaram que níveis de A_w abaixo de 0,4 podem acelerar a reação de Maillard e acima de 0,7 podem propiciar o desenvolvimento de fungos.

Vale ressaltar que, o órgão americano de regulamentação de alimentos e remédios define a severidade do tratamento térmico de produtos enlatados com base nos valores abaixo de 0,85 para A_w e 4,5 para pH, onde não há crescimento de bactérias patogênicas, especialmente *Clostridium botulinum*, caracterizando, desta forma, a extrema relevância dos parâmetros de pH e A_w para as indústrias de alimentos (JOHNSTON; LIN, 1987).

2.6.3 Índice de absorção e solubilidade em água

O Índice de Absorção em Água (IAA) e o Índice de Solubilidade em Água (ISA) representam duas principais propriedades de hidratação de produtos em pó, sendo seu conhecimento de fundamental importância para aplicação destes produtos nas indústrias de alimentos (CHOU; MORR, 1979).

O IAA indica a quantidade de água absorvida pelos grânulos de amido de um determinado alimento submetido à temperatura ambiente, enquanto o ISA indica a solubilidade do amido em água, sem aquecimento (ANDERSON et al., 1969). Embora o amido seja o principal composto envolvido nos processos de absorção e solubilidade em água, macromoléculas como fibras, proteínas e outros carboidratos também possuem a capacidade de ligação com as moléculas de água (CHOU; MORR, 1979).

Segundo Maia e Golgher (1983), a solubilidade é um dos parâmetros utilizados para verificar a capacidade do pó para manter-se em mistura homogênea com a água, onde o aumento da estabilidade é comumente relacionado a elevado grau de solubilização.

A maioria das técnicas propostas para determinação da absorção e solubilidade baseia-se na estimativa da quantidade de material absorvido ou dissolvido ou da quantidade de material insolúvel. Geralmente, os testes incluídos na segunda categoria são mais sensíveis e envolvem as seguintes etapas: mistura e

homogeneização de quantidades conhecidas da amostra e da água, em temperatura controlada; centrifugação ou repouso em condições prefixadas; separação do sobrenadante; secagem e pesagem do resíduo (ANDERSON et al., 1969).

É importante salientar que, farinhas com elevada capacidade de absorção de água são desejáveis para o preparo de sopas, mingaus e pudins instantâneos. Ademais, os índices de absorção e solubilidade em água podem ser aumentados com o aquecimento de uma suspensão de farinha, uma vez que o fornecimento de energia poderá causar uma quebra das ligações intermoleculares da farinha e expor suas hidroxilas, que por sua vez poderá se ligar facilmente a água (TORRES et al., 2005).

2.6.4 Dispersão de partículas

A análise granulométrica de partículas sólidas compreende a determinação do tamanho das mesmas sendo frequente a necessidade de separação em relação ao tamanho no processamento de alimentos sólidos. As técnicas de separação são baseadas nas diferenças físicas entre as partículas como tamanho, forma ou densidade (LIMA; LUZ, 2001).

A análise granulométrica por peneiramento é o método mais antigo, baseado na separação de partículas levando-se em consideração apenas o tamanho. Nesta técnica a faixa de tamanhos utilizada é bastante ampla (0,037 a 100 mm), sendo de grande aplicação em laboratórios. A superfície de peneiramento das peneiras é constituída por aberturas quadradas ou retangulares, formadas por fios trançados perpendicularmente (VALADÃO; ARAUJO, 2007).

O peneiro para este tipo de análise consiste em um suporte metálico cilíndrico semelhante a um latão, alumínio ou inox, que auxilia no suporte de uma rede geralmente metálica denominada de malha calibrada. Para análises rápidas utiliza-se, normalmente, uma série de peneiros os quais são reduzidos a metade a cada nível de peneiramento, isto é, peneiros com malhas de 1mm, 0,5mm, 0,250mm, 0,125mm e 0,0625mm, enquanto para análises mais demoradas são utilizados peneiros que são reduzidos a 1/4 a cada nível de peneiramento. Os peneiros são dispostos de maneira a permitir o encaixe uns nos outros possibilitando a formação de uma coluna de peneiração. Em seguida, a referida coluna é agitada por um aparelho vibratório, designado por "agitador de peneiros" que imprime aos

peneiros movimentos de elevada frequência que viabilizam a peneiração das partículas. Após a peneiração deve-se pesar cuidadosamente as frações de peneiração (material retido em cada uma das malhas). Normalmente o peso total das frações de peneiração é inferior ao da amostra original, provavelmente, por partículas perdidas devido aos movimentos vibratórios, sendo aceitáveis perdas até 1% do peso original (DIAS, 2004).

Durante o processo de peneiração, as partículas menores ou finas, passam através das aberturas da peneira, enquanto as partículas maiores permanecem retidas (VALADÃO; ARAUJO, 2007). Geralmente, a peneiração é realizada com material seco e o tempo necessário para realização deste processo varia de acordo com o peso inicial da amostra (DIAS, 2004).

Vale ressaltar que, o conhecimento prévio da distribuição granulométrica das partículas que serão processadas é de grande importância, pois esta informação definirá as condições de operação e os equipamentos que levarão à granulometria desejada do produto, fornecerá dados para o cálculo da energia dispensada para produção bem como para o controle de qualidade do produto de acordo com as especificações de mercado (VALADÃO; ARAUJO, 2007).

2.7 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS

O músculo do peixe recentemente capturado é estéril uma vez que o sistema imunológico deste impede a multiplicação microbiana na porção muscular. Após a morte, o sistema de defesa cessa e a proliferação bacteriana ocorre livremente, principalmente na superfície da pele (GERMANO; GERMANO, 2003). Segundo Sivertsvik; Jeksrud e Rosnes (2002) a maior carga microbiana do pescado encontra-se na pele, brânquias e intestinos, sendo contagens de 10^2 a 10^7 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) consideradas normais para a superfície do pescado. Nas brânquias e intestinos as contagens típicas situam-se entre 10^3 e 10^9 UFC.

O pescado é considerado uma das principais fontes de proteína do ser humano. Todavia, dentre os produtos de origem animal, representa um dos alimentos mais suscetíveis ao processo de deterioração devido a aspectos fisiológicos e bioquímicos que propiciam condições intrínsecas favoráveis à multiplicação microbiana, como elevada atividade de água, pH próximo da neutralidade, grande quantidade de nutrientes, facilmente utilizáveis por

microrganismos, e rápida ação das enzimas autolíticas, além da predominância de gorduras insaturadas, moléculas quimicamente instáveis que se degradam, propiciando a instalação do ranço oxidativo (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

É importante salientar que entre os processos que podem levar à deterioração do pescado como a ação de enzimas autolíticas, a autooxidação lipídica e atividade bacteriana, os microrganismos constituem os principais responsáveis pelo surgimento das alterações no pescado (RIBEIRO et al., 2009). Ademais, a microbiota natural do pescado pode variar em função de alguns fatores como a qualidade e tipo da água (doce ou salgada), sazonalidade, temperatura, presença de poluentes, condições de captura, armazenamento, manipulação e conservação (GERMANO; GERMANO, 2003), sendo o gelo um dos elementos mais utilizados para a conservação do pescado devido ao seu baixo custo (ZANINI et al., 2001).

2.7.1 Bactérias Heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotróficas

As bactérias mesófilas constituem um grupo capaz de se multiplicar entre 10°C e 45°C, sendo a temperatura ideal em torno de 30-35°C (HORST; SILVA, 2005). Os psicrotróficos são definidos como microrganismos capazes de multiplicar em alimentos refrigerados entre 0°C e 7°C, sendo 20°C a temperatura ótima de crescimento. Estes microrganismos produzem crescimento visível a $7 \pm 1^\circ\text{C}$ em 7 a 10 dias, embora esta não seja a temperatura ótima de crescimento. Portanto, devido a esta característica, os psicrotróficos são considerados um subgrupo dos mesófilos (COUSIN; VASAVADA, 2001).

Segundo Franco e Landgraf (2008) o número de microrganismos aeróbios mesófilos encontrado em um alimento tem sido um dos indicadores microbiológicos da qualidade dos alimentos mais comumente utilizados com a finalidade de verificar se determinadas etapas como limpeza, desinfecção e controle da temperatura durante os processos de tratamento industrial, transporte e armazenamento foram realizadas adequadamente. Além disso, a contagem de mesófilos permite a obtenção de informação sobre alteração incipiente e a provável validade comercial dos alimentos, falta de controle no descongelamento dos alimentos ou abuso de temperatura de refrigeração durante o armazenamento em relação ao binômio tempo/temperatura.

Os microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos são responsáveis pelo processo de deterioração em alimentos, portanto, a contagem destes grupos bacterianos é comumente empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos, sendo os microrganismos psicrotróficos mais comumente relacionados a alimentos refrigerados. Ademais, alguns mesófilos e psicrotróficos podem ser patogênicos (COUSIN; VASAVADA, 2001; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Contudo, mesmo na ausência de patógenos e de alterações sensoriais do alimento, um número elevado destes microrganismos indicam práticas inadequadas de manipulação e acondicionamento durante o transporte e comercialização de pescado (GERMANO; GERMANO, 2003) caracterizando um alimento insalubre (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Em relação à legislação nacional, não há limites previstos para contagem em placas de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas em pescado. Em contrapartida, a legislação internacional estabelece 7,0 Log UFC/g como o limite máximo para tais microrganismos (ICMSF, 1986).

Vale ressaltar que, a higiene insatisfatória dos porões dos barcos pesqueiros, onde é realizado o armazenamento do pescado, a qualidade inapropriada da água utilizada para lavagem e para a fabricação do gelo bem como o transporte em condições de refrigeração inadequadas, têm sido indicados como fatores preponderantes na contaminação pós-captura (GERMANO; GERMANO, 2003). Desta forma, a implantação de programas de controle de qualidade, embasados inicialmente nas boas práticas de manipulação que contemplem a adequação da infraestrutura dos barcos pesqueiros, principalmente em relação à cadeia de frio, associada ao treinamento dos manipuladores a bordo e em terra, no próprio comércio varejista em muito contribuiriam para a melhoria da qualidade apresentada pelo pescado (MOURA et al., 2003).

2.7.2 Contagem de fungos

A contagem deste grupo microbiano é aplicável principalmente, na análise de alimentos ácidos, com pH inferior a 4,5, com baixa atividade de água como produtos parcialmente desidratados (farinhas), e elevada fração lipídica, que consiste um meio propício para o desenvolvimento de fungos (BEUCHAT; COUSIN, 2001; FRANCO; LANDGRAF, 2008; SIQUEIRA, 1995). Os fungos representam os principais perigos biológicos destes tipos de alimentos sendo o principal risco, sob o

âmbito da segurança dos alimentos, associado a produção de micotoxinas por alguns gêneros especialmente *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* (FRANCO; LANDGRAF, 2008; NUNES et al., 2003).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 1978) estabelece como limite máximo em farinhas e sopa desidratada 3 Log para bolores e leveduras UFC/g.

Cabe salientar que, além da preocupação relacionada à presença deste grupo microbiano em produtos secos como farinhas, deve-se atentar para a pesquisa de fungos em condimentos, os quais geralmente são utilizados para realçar sabor e aumentar a conservação, devido as propriedades antioxidantes, de produtos semi-prontos ou prontos, tendo em vista que frequentemente, os condimentos permanecem no solo para secagem à temperatura ambiente, onde as condições climáticas favorecem o crescimento de fungos e a produção de micotoxinas (ERDOGAN, 2004).

Desta forma, o monitoramento da contaminação microbiana é imprescindível para assegurar a qualidade e segurança dos alimentos, reduzindo as perdas econômicas, bem como os riscos à saúde humana (MEIRELLES et al., 2006).

2.7.3 Bactérias patogênicas

O pescado pode atuar como veículo de microrganismos patogênicos para o homem, como as bactérias *Staphylococcus coagulase positiva*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Clostridium perfringens*, entre outros organismos mesófilos. A presença desses microrganismos evidencia deficiências em algumas etapas do processamento ou na conservação do produto final, que comprometem a qualidade e o grau de frescor, podendo causar graves danos à saúde do consumidor, que vão desde uma simples intoxicação até a morte. Uma fonte de contaminação importante é a manipulação do pescado, desde o momento da captura, até sua destinação final, após passar por inúmeras fases de processamento e transporte e a deficiência no processo de sanitização dos equipamentos de processamento. Outro fator que afeta a qualidade do pescado são os próprios pescadores e empresários que negligenciam o aspecto higiênico sanitário de produção e comercialização do pescado e da água utilizada para a produção do gelo (RIBEIRO et al., 2009).

Desta forma, é fundamental que, a partir da captura do pescado, sejam adotadas medidas que objetivem reduzir ao mínimo a ação de tais fatores, com a finalidade de obter-se um produto final em condições adequadas de consumo (ESAIASSEN et al., 2004).

A *Salmonella* sp. são bacilos Gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, catalase positivos, oxidase negativos, redutores de nitratos a nitritos e geralmente, móveis à exceção da *S. gallinarum* e da *S. pullorum* (GERMANO; GERMANO, 2003). O pH ótimo para a multiplicação fica próximo de 7,0 e a temperatura ideal encontra-se na faixa de 35 °C a 37°C (GASPAR; VIEIRA; TAPIA, 1997), sendo possível registrar o crescimento deste microrganismo em temperaturas que variam de 5°C até 47°C. Ademais, os microrganismos do gênero *Salmonella* são termosensíveis e são destruídas pelas temperaturas de pasteurização (ADAMS; MOSS, 1997).

Está amplamente distribuída na natureza, sendo o principal reservatório destas bactérias o trato intestinal do homem e animais de sangue quente e frio, exceto peixes, moluscos e crustáceos, os quais contaminam - se após a captura e durante a manipulação (JAKABI et al., 1999).

A penetração no organismo humano ou animal ocorre mediante o consumo de alimento ou água contaminados (PINTO, 2001). Em média, a dose infectante encontra-se em torno de 10^5 UFC/g/mL. É o grupo de bactérias responsável pela maior frequência de doenças causadas pela contaminação de alimentos, resultando em surtos, com maior ou menor número de casos em diversos países (JAKABI et al., 1999).

Existem diversos sorotipos de *Salmonella* sendo a maioria patogênica para o homem, de forma que os sintomas clínicos podem ser divididos em três grupos: Febre tifóide, Febre entérica e Salmonelose (SHINOHARA et al., 2008).

A Febre tifóide acomete somente o homem, sendo causada pelo sorotipo *S. typhi*. O mecanismo de infecção é interpessoal e através da água e alimentos contaminados com material fecal humano. O homem infectado pode tornar-se portador assintomático por meses e/ou anos representando uma fonte contínua de contaminação. O período de incubação da doença varia entre 7 a 21 dias e a duração da doença pode alcançar oito semanas. Os sintomas mais comuns são febre alta, diarreia e vômitos, podendo evoluir para óbito (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1998).

A febre entérica é causada pelo consumo de água e alimentos, especialmente leite e vegetais crus, mariscos e ovos contaminados com a *Salmonella paratyphi* A, B e C. O período de incubação é usualmente de 6 a 48 horas e a duração média da doença é de três semanas. Os sintomas clínicos são caracterizados frequentemente por um quadro de gastroenterite, febre e vômitos, podendo evoluir para septicemia, sendo os sintomas mais brandos quando comparado à febre tifóide (SHINOHARA et al., 2008).

A Salmonelose é a manifestação mais comum de infecção por *Salmonella* sp. É uma infecção gastrointestinal caracterizada por dores abdominais, diarreia, febre baixa e vômito, sendo raros os casos clínicos fatais. A manifestação dos sintomas pode ocorrer a partir de 6 horas após a ingestão do alimento contaminado com período de duração de até 72 horas com resolução em dois a três dias, não necessitando de tratamento com antibióticos (GERMANO; GERMANO, 2003).

Staphylococcus aureus é uma bactéria Gram-positiva, anaeróbio facultativo que tende a formar grupamentos semelhantes a cachos de uva (GONÇALVES; HERNANDÉS, 1998).

A bactéria *S. aureus* é de grande importância nos surtos de infecção alimentar; podendo ser encontrada em diferentes regiões do corpo como as mãos, garganta, faringe, glândulas mamárias, trato intestinal, e urinário, dos quais por contaminação cruzada contamina o pescado (EVANGELISTA-BARRETO, 2001).

A bactéria pode ser encontrada na cavidade nasal, boca, pele e cabelo de mais da metade da população aparentemente saudável. Lesões contaminadas, feridas e secreções expelidas através da tosse ou espirros de portadores também são fontes de contaminação. A maioria dos surtos de intoxicação alimentar por *Staphylococcus* spp resulta da contaminação do alimento pelo manipulador durante o seu preparo. Qualquer alimento que necessite de manipulação está sujeito à contaminação, mas os mais comumente envolvidos em surtos por *S. aureus* são as carnes, cremes, tortas, produtos de confeitaria recheados com cremes e alimentos preparados com leite e seus derivados. O microrganismo multiplica-se em temperatura de 7°C a 48°C e é destruído em dois minutos a 65,5°C, no entanto, a sua enterotoxina é termoresistente, não sendo destruída pelo calor, mesmo durante 30 minutos a 100°C (SILVA JÚNIOR, 2002).

Indivíduos portadores de infecção cutânea ou respiratória que trabalham na área de beneficiamento de produtos pesqueiros muitas vezes são responsáveis pela

contaminação dos alimentos, devido à inadequadas condições de higiene durante a manipulação e comercialização do pescado. *Staphylococcus aureus* causa intoxicação alimentar caracterizada por sintomas como náuseas, vômitos, câibras abdominais geralmente bem dolorosas, diarreia e sudorese, podendo ainda ocorrer dores de cabeça, queda de pressão arterial e, raramente, febre; pode ser fatal em crianças e idosos, principalmente se estiverem debilitados em função de outras doenças (ALVES et al., 2002).

Os coliformes totais são bacilos Gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não esporogênicos. Este grupo é composto por bactérias da família Enterobacteriaceae, principalmente, pelos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* e são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubadas à temperatura de 35-37°C, por 48 horas. Este grupo bacteriano pode ser encontrado nas fezes e em outros ambientes como vegetais e solos. Desta forma, a presença de coliformes totais no alimento, não indica necessariamente contaminação fecal recente, uma vez que apenas a *Escherichia coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e animais (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Entretanto, as bactérias deste grupo bacteriano podem ser consideradas como microrganismos indicadores de condições sanitárias inadequadas de produção e manipulação de alimentos, além de indicar possível presença de patógenos entéricos devido as seguintes características: presença em grande quantidade apenas em fezes de animais de sangue quente, incluindo os homens, fato que aumenta a possibilidade da presença desses microrganismos na água indicando contato da mesma com excretas destes animais; e resistência às condições ambientais semelhantes aos demais microrganismos patogênicos (COSTA et al., 2004).

Os coliformes termotolerantes são bacilos Gram-negativos, não esporulados, capazes de fermentar a lactose com produção de gás quando incubadas por 24 a 48 horas a 44,5 - 45,5°C (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Segundo o mesmo autor, a *Escherichia coli* é a espécie predominante entre os diversos microrganismos anaeróbios facultativos pertencentes à microbiota intestinal de animais de sangue quente. A presença desta espécie nos alimentos indica grave risco à saúde humana e animal, tendo em vista que diversas linhagens são comprovadamente patogênicas para o homem e animais, além de condições

higiênico-sanitárias insatisfatórias como os outros microrganismos que compõem a grupo dos coliformes totais. Além disso, a enumeração de *E. coli* auxilia na detecção do perigo potencial de uma toxinfecção alimentar através da água e dos alimentos fornecidos ao consumo.

As linhagens patogênicas desta espécie são agrupadas em classes de acordo com os fatores de virulência, manifestações clínicas, epidemiologia e sorotipagem: EPEC (*E. coli* enteropatogênica clássica), EIEC (*E. coli* enteroinvasora), ETEC (*E. coli* enterotoxigênica), EHEC (*E. coli* enterohemorrágica), EaggEC ou EAEC (*E. coli* enteroagregativa) e DAEC (*E. coli* difusamente aderente) (MENG; FENG; DOYLE, 2001).

EPEC é um importante microrganismo causador de gastroenterite em crianças, enquanto as cepas de EIEC são capazes de penetrar em células epiteliais causando febre alta, anorexia, náuseas, vômitos, cefaleia, calafrios, sintomas similares a Shigelose (FRANCO; LANDGRAF, 2008). ETEC são as cepas capazes de aderir a mucosa do intestino delgado através de fímbrias e produzir enterotoxina, as quais podem ser termolábeis ou termoestáveis. Esta cepa causa diarreia profusa aquosa sem sangue e representa a causa mais comum de diarreia do turista, sendo a ingestão via alimentos processados inadequadamente ou via água contaminada com detritos fecais. EHEC tem a capacidade de produzir citotoxinas denominadas "shiga-like toxins" (SLT) ou verotoxinas (VT) que causam diarreia aquosa inicial podendo progredir para colite hemorrágica e síndrome hemolítico-urêmica que ocorre em 5% das infecções por esta cepa. Ademais, podem provocar anemia, trombocitopenia e insuficiência renal aguda potencialmente perigosa (MENG; FENG; DOYLE, 2001). As cepas EAEC possivelmente estão relacionadas com casos crônicos de diarreia (FRANCO; LANDGRAF, 2008) e a DAEC com diarreia em crianças, contudo não há relatos de ambas as cepas em surtos alimentares (FRANCO; LANDGRAF, 2008; MENG; FENG; DOYLE, 2001).

No Brasil, a Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão que regulamenta os padrões microbiológicos em alimentos, através da Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, preconiza que o pescado *in natura*, resfriado ou congelado e que não será consumido cru, deve apresentar-se livre de *Salmonella* sp em 25 g e limita em 10^3 o número de *Staphylococcus* coagulase positiva/g do pescado (BRASIL, 2001). Em relação aos coliformes, a Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, não estabelece padrão para a contagem de bactérias do grupo

coliformes para o pescado fresco, inclusive a contagem de coliformes a 45 °C não é solicitada pela referida resolução. No entanto, para coliformes termotolerantes estabelece um valor de 10^2 NMP/g de alimento para pratos prontos a base de pescado e que possam ser consumidos crus (BRASIL, 2001). Com base na legislação internacional o limite máximo de coliformes 45°C para o pescado *in natura* refrigerado a 4°C ou congelado a -18 °C é de 10^3 NMP.g⁻¹ (ICMSF, 1986).

Pesquisas direcionadas ao aproveitamento de resíduos do processo de filetagem de tilápia, geralmente, incluem análises de microrganismos patogênicos, tendo em vista a elevada manipulação durante a fabricação dos produtos. Todavia, diversos autores relataram produtos elaborados com resíduos de tilápia, usualmente, encontram-se dentro dos padrões microbiológicos (MARENGONI et al., 2009; MELLO et al., 2010; OLIVEIRA FILHO et al., 2010; STEVANATO et al., 2010).

2.8 MÉTODOS SENSORIAIS

O primeiro documento registrado relacionado à análise sensorial, no seu modo empírico, refere-se a um tratado sobre aromas, escrito na Grécia, no ano de 300 a.C., quando os alimentos eram classificados em bons e ruins (PANGBORN, 1964).

A análise sensorial como uma ciência surgiu nos anos 40 nos países Escandinavos (teste triangular, desenvolvido na Carlsberg Brewery por Bengtsson e colaboradores) e nos Estados Unidos (estudos realizados por Peryon e Swartz). No final da década de 50, deu-se início a utilização de testes sensoriais na "Europa continental", onde métodos de degustação foram aplicados pela primeira vez com o objetivo de controlar a qualidade em cervejarias e destilarias (JELLINEK, 1985).

Durante a Segunda Guerra Mundial outra importante aplicação da análise sensorial foi evidenciada devido à necessidade de elaboração de produtos de qualidade, que não fossem rejeitados pelos soldados americanos (MONTEIRO, 1984). No Brasil, a análise sensorial baseada em métodos de degustação surgiu em 1954 no laboratório de degustação da seção de Tecnologia do Instituto Agrônomo de Campinas (São Paulo), como ferramenta para avaliar a qualidade do café (MORAES, 1985).

O desenvolvimento da análise sensorial ocorreu de acordo com os acontecimentos e com a necessidade do homem, similarmente ao progresso da

maioria das ciências. A procura de produtos aromáticos orientais para condimentação alimentar e cosmética aliada à expansão do comércio internacional contribuíram para o desenvolvimento de uma análise sensorial mais apurada e formal. Desta forma, os métodos sensoriais foram desenvolvendo-se conforme o crescimento das indústrias alimentícias (DUTCOSKY, 1996; JELLINEK, 1985).

Segundo Dutcosky (1996) a evolução da análise sensorial pode ser descrita em quatro fases: a primeira fase (antes de 1940) é representada pela “indústria” de alimentos de caráter artesanal, onde a qualidade e as características dos produtos eram determinadas pelo proprietário da empresa; a segunda fase (entre 1940 e 1950) baseia-se na expansão industrial, com incorporação de pessoal com conhecimento técnico e controle de método químicos e instrumentais, não aceitando-se técnicas subjetivas, como a degustação; a terceira fase (entre 1950 e 1970) foi evidenciada pela percepção da possibilidade de utilização do homem como ferramenta para avaliação das características dos alimentos, desde que esta avaliação fosse conduzida de maneira a possibilitar um tratamento estatístico representativo. Neste período foram desenvolvidos inúmeros métodos de análise sensorial e métodos estatísticos capazes de relacionar medidas sensoriais e instrumentais. Na quarta fase (após 1970) a qualidade sensorial de um alimento foi definida como produto da interação de suas características com as percepções humanas, além da determinação da utilidade das medidas instrumentais somente quando apresentam correlação adequada com as medidas sensoriais.

Neste contexto, a análise sensorial foi definida pela Associação Brasileira de Normas Técnicas como a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993).

A avaliação sensorial pode ser interpretada como um elo entre pesquisa e desenvolvimento, com foco sobre os aspectos técnicos da pesquisa de alimentos, no consumidor e no marketing, visando o entendimento do comportamento e psicologia dos consumidores (DIJKSTERHUIS, 2005).

Os métodos sensoriais podem ser classificados em três grupos: os métodos discriminativos, que indicam as diferenças percebidas entre os produtos; os métodos descritivos (testes objetivos), que tem a finalidade de identificar e mensurar a intensidade de uma característica particular ou todas as características do produto; e os métodos afetivos (testes subjetivos), que buscam a opinião do consumidor, como

aceitação ou preferência do produto, podendo ser analisados de forma individual ou relacionados a outros produtos (CHAVES; SPROESSER, 2002). Tradicionalmente, os testes discriminativos e descritivos (testes analíticos) são executados com julgadores treinados enquanto testes afetivos são executados com os consumidores, medindo a reação aos estímulos resultantes da utilização ou consumo de um produto (STONE; SIDEL, 1993).

Nos métodos analíticos é necessária a seleção e/ou treinamento da equipe sensorial e também é exigida uma avaliação objetiva, onde as preferências ou opiniões pessoais dos membros da equipe não são consideradas (ABNT, 1993). Em contrapartida, nos métodos afetivos é possível utilizar pessoal sem treinamento prévio, pois buscam-se respostas resultantes de estímulos e reações espontâneas do indivíduo ao degustar e avaliar o alimento. Tais testes normalmente são empregados para determinar a aceitabilidade ou preferência de um produto (DE PENNA, 1999).

Vale ressaltar que a classificação dos métodos sensoriais é dada em função do objetivo geral do teste, sendo a correta escolha e aplicação dos mesmos de fundamental relevância para definição do sucesso do estudo (AVENDANO, 2007).

2.8.1 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

A Análise Descritiva Quantitativa consiste em um método sensorial descritivo, o qual é distinguido de outros métodos de ensaio sensitivos na medida em que procuram o perfil de um produto em todas as suas características sensoriais percebidas. A ADQ baseia-se no princípio da habilidade dos julgadores em verbalizar as percepções de um produto de forma confiável. Os julgadores são selecionados e treinados para reconhecimento dos atributos e para avaliá-los de acordo com uma escala, a partir de uma linguagem sensorial comum e consensual, e ensaios repetidos para obtenção de uma descrição quantitativa completa. Ademais, a linguagem não técnica utilizada nesta análise possui a finalidade de evitar a polarização do comportamento das respostas que podem ocorrer através de uma linguagem técnica, fato que poderia implicar em respostas tendenciosas (STONE; SIDEL, 1993).

O método para Análise Descritiva Quantitativa possui, basicamente, as seguintes etapas: recrutamento de provadores, pré-seleção de provadores,

levantamento dos atributos, treinamento, testes preliminares, seleção de provadores, procedimento do teste ADQ e tabulação e análise dos resultados (DELLA LUCIA, 1999).

Vale ressaltar que é desejável que a equipe treinada possua familiaridade com as características sensoriais do produto, pois, desta forma, demonstrarão superior desempenho no momento da descrição das características avaliadas, fato que facilita a precisão e o detalhamento das percepções sensoriais. Todavia, embora sejam almejados provadores com familiaridade das características sensoriais de um produto, não é recomendável a participação de especialistas na equipe sensorial (CHAVES; SPROESSER, 2002).

Segundo o autor supracitado, a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) representa uma técnica valiosa quando a finalidade consiste na obtenção de melhores informações sobre aparência, aroma, sabor ou textura de alimentos. Além disso, conforme Stone e Sidel (1993), a ADQ fornece o perfil sensorial de um produto denotando elevada relevância para as indústrias alimentícias, uma vez que este perfil pode ser utilizado para orientar as equipes de desenvolvimento de novos produtos sobre aspectos que devem ser alterados ou aperfeiçoados para obtenção de características desejáveis pelo consumidor e também para aproximar-se de um ponto de referência de qualidade ou para detectar diferenças detalhadas ocasionadas por alterações na formulação de produtos.

2.8.2 Teste de aceitação e de intenção de consumo

Os testes afetivos dividem-se em Ordenação, Comparação Pareada, Escalas de Atitude e Escala Hedônica, os quais possuem o propósito de avaliar a resposta pessoal, preferência ou aceitação de um consumidor em potencial, ter uma ideia da aceitação ou avaliar uma característica em especial de um determinado produto (BERGARA-ALMEIDA; SILVA, 2002). As escalas de atitude e hedônica são os métodos mais empregados para medida da aceitação de produtos (CHAVES; SPROESSER, 2002).

Contudo, mais especificamente a escala hedônica de nove pontos é o método mais empregado para mensurar a aceitação de um produto. Desde seu desenvolvimento, a referida escala tem sido extensivamente utilizada com considerável sucesso em uma ampla variedade de produtos, haja visto que a escala

é facilmente entendida pelos julgadores com o mínimo de instruções, além dos resultados serem reprodutivos com diferentes grupos de consumidores (STONE; SIDEL, 1993).

A escala hedônica é utilizada para indicar o grau de aceitabilidade ou rejeição do produto, sendo que os melhores resultados são obtidos com escalas balanceadas, tendo um número igual de categorias positivas e negativas de igual tamanho (BERGARA-ALMEIDA; SILVA, 2002).

Os provadores expressam a sua aceitação seguindo uma escala previamente estabelecida, que varia gradativamente desde “gostar” até “desgostar” (CHAVES; SPROESSER, 2002). A escala hedônica estruturada em 9 pontos normalmente é utilizada para a realização do teste de aceitação (9 = gostei extremamente; 1 = desgostei extremamente) (STONE; SIDEL, 1993), enquanto para a análise sensorial de atitude compra, comumente utiliza-se a escala de 5 pontos (5 = eu certamente compraria o produto; 1 = eu certamente não compraria o produto) (SEABRA et al., 2002). Tais escalas são utilizadas com o intuito de obter informações sobre a aceitação de produtos pelo consumidor nas fases iniciais de desenvolvimento, além de determinar a aceitação e intenção de compra dos consumidores em caso de alteração nas formulações do produto, modificações nos processamentos, nas matérias-primas, embalagens, condições de estocagem e no tempo de conservação dos alimentos (CHAVES; SPROESSER, 2002).

Segundo Simões et al. (1998), adotando-se a escala hedônica de nove pontos, a análise pode ser dividida em etapas com diferentes atributos, sendo que os provadores recebem informações suficientes para que possam ter a capacidade de atribuir uma nota para cada amostra experimentada e os resultados possam ser analisados posteriormente por testes estatísticos.

Chaves e Sproesser (2002) relatam ainda que os testes de aceitação necessitam de equipes com um grande número de provadores não treinados (acima de 30) que representem a população de consumidores atuais ou potenciais do produto. Além disso, devido à necessidade de um grande número de provadores para maior exatidão destes testes, os mesmos não devem ser utilizados para controle de qualidade na produção de alimentos.

Com o uso da escala hedônica, o teste de aceitação pode medir, com certa segurança, o grau de gostar e a aceitação de um produto. Além disso, é possível obter uma indicação do produto ou produtos que deverão receber maior atenção,

pela possibilidade de se tornarem comercialmente viáveis (GRIZOTTO; MENEZES, 2003).

Vale ressaltar que o grau de aceitabilidade de um alimento por parte dos consumidores é afetado por fatores próprios de cada indivíduo e pelo ambiente ao seu redor, como por exemplo, os hábitos e padrões culturais; os prejuízos a respeito das expectativas sobre um produto; a fidelidade a determinadas marcas, que fazem com que o consumidor não mude de produto; a higiene e o local de consumo; o tipo e o número de acompanhantes. Ademais, o grau de aceitabilidade de um alimento pode ser afetado, dentre outros aspectos, pela sensibilidade individual, muito variável de pessoa a pessoa; pela idade, especialmente crianças menores de 5 anos e idosos, que manifestam preferências particulares (DASSO, 1999).

É importante salientar que os termos ambíguos, que possam causar confusão e dificultar a decisão do provador devem ser evitados, pois com a finalidade de análise estatística, os pontos da escala são associados a valores numéricos, fato que possibilita a análise de variância ou o uso de outras técnicas para apresentação dos resultados de aceitação (CHAVES; SPROESSER, 2002).

2.8.3 Just-About-Right

As indústrias de alimentos tem buscado a produção de produtos ideais. Sob o ponto de vista de análise sensorial, diferentes ferramentas podem ser usadas como aceitação global através de um painel de consumidores, classificação de atributo ideal a partir da metodologia “Just-About-Right (JAR)” e avaliação geral por meio de um painel de treinado (BALLESTER et al., 2005; CHAN et al., 2013; TRIJP et al., 2007).

A metodologia “Just About Right” é uma abordagem direta para a mensuração de um nível adequado e desvio de níveis ideais de um atributo específico em um determinado produto. A partir desta análise, os julgadores avaliam diretamente os desvios do ideal, geralmente com escalas contendo termos que variam de "demasiadamente pouco ou fraco" a "demasiadamente muito ou forte", sendo o termo “ideal” o ponto médio da escala. Esta é uma medida direta da intensidade dos atributos percebidos, portanto, o método JAR é empregado para determinar os níveis ótimos de atributos em um produto, entretanto não é possível

quantificá-los diretamente (CHAMBERS; BAKER, 1996). Embora existam muitas variações de escalas JAR, geralmente tais escalas consistem em cinco ou sete pontos, variando de muito pouco a muito para uma determinada característica do produto (MEULLENET; XIONG; FINDLAY, 2007). A escala mais comumente utilizada nos testes sensoriais é a escala de 5 pontos na qual para o atributo gosto salgado por exemplo, os pontos são rotulados da seguinte forma: demasiadamente pouco salgado, pouco salgado, ideal, muito salgado, demasiadamente muito salgado). No entanto, outros atributos podem ser avaliados em produtos variados como, por exemplo, a utilização de uma escala com os pontos "pouco doce", "ideal" e "muito doce" para aperfeiçoar o atributo doçura em limonada (CHAN et al., 2013; JOHNSON; VICKERS, 1987; VICKERS, 1988).

O método JAR é extremamente popular tanto entre os profissionais da área de análises sensoriais como aqueles relacionados ao setor mercadológico, não obstante as intensas críticas provocadas por diversos motivos, incluindo o fato de que os questionamentos do JAR sobre os produtos exigiriam elevado conhecimento dos consumidores em relação ao que eles idealmente gostariam em um produto bem como entendimento consensual dos atributos em questão (LAWLESS; HEYMANN, 1998). Contudo, a medição do desvio de níveis ideais de um atributo específico de um produto é incluída nos testes sensoriais para auxiliar os pesquisadores no entendimento do motivo dos consumidores gostarem ou não gostarem de um produto e para orientar os esforços de desenvolvimento de produtos destinados a elevar a aceitabilidade do consumidor (CHAMBERS; BAKER, 1996).

Os resultados obtidos através dos métodos utilizando escalas hedônicas e JAR podem ser correlacionados com a finalidade de fornecer informações direcionadas para a reformulação ou otimização de produtos (LAWLESS; HEYMANN, 1998). Ademais, os desvios do "Just About Right" podem ser relacionados com a aceitação global através da análise de penalização (CAVITT et al., 2005), sendo os resultados expressos como percentagem de julgadores que consideraram os níveis dos atributos como ideal, abaixo ou acima do ideal (CHAMBERS; BAKER, 1996).

2.9 MÉTODOS INSTRUMENTAIS

Atualmente, a satisfação do consumidor provém de sua percepção positiva acerca de um produto, sendo o próprio consumidor quem designa os parâmetros de qualidade dos produtos (DELLA LUCIA, 2008). Desta forma, é fundamental o conhecimento das características (POLICARPO et al., 2007) que caracterizam a qualidade e aceitação dos produtos como aparência, cor, aroma, sabor e textura.

A cor é um dos principais parâmetros indicadores de qualidade e tem forte influência na aceitação do consumidor (OLIVO; GUARNIERI; SHIMOKOMAKI, 2001), enquanto a textura é a manifestação sensorial e funcional das propriedades estruturais, mecânicas e superficiais dos alimentos, detectadas pelos sentidos da visão, audição, tato e sinestéticas (FOEGEDING, 2007; SZCZESNIAK, 2002).

Embora alterações nos parâmetros de pescado como coloração e textura sejam facilmente detectáveis sensorialmente pelos consumidores e, portanto, representem os principais fatores que alteram a qualidade da carne de peixe (KUBITZA, 2000), os métodos instrumentais constituem uma alternativa para a avaliação de textura e cor, fornecendo dados que podem estar relacionados com a descrição sensorial (LASSOUED et al., 2008).

A correlação entre medidas instrumentais e sensoriais fornece informações de uso prático no monitoramento e desenvolvimento de produtos, sendo de fundamental relevância para definição dos parâmetros instrumentais que garantem máxima aceitação sensorial. Desta forma, a indústria pode apenas utilizar os parâmetros definidos por meio da relação de dados instrumental e de aceitação sensorial para avaliar se um determinado parâmetro de um produto está adequado. Portanto, a relação entre medidas instrumental e sensorial é de grande importância para a indústria de alimentos, uma vez que os parâmetros instrumentais são obtidos mais facilmente, em menor tempo e com menor custo (VIDIGAL, 2009).

2.9.1 Análise do perfil de textura

A textura é definida como todas as propriedades reológicas e estruturais (geométricas e de superfície) de um alimento, perceptíveis pelos receptores mecânicos, táteis e eventualmente pelos receptores visuais e auditivos (ABNT, 1993).

A textura é composta por um conjunto de atributos sensoriais de elevada relevância, onde as características de textura da superfície do alimento são um dos primeiros parâmetros de qualidade avaliados pelos consumidores, sendo fundamental para a aceitação do produto (LI; CARPENTER; CHENEY, 1998).

Diversos métodos instrumentais têm sido desenvolvidos para determinar as propriedades de textura dos alimentos (BOURNE, 2002), merecendo destaque o Perfil de Textura Instrumental, que vem sendo aplicado com eficiência para uma gama de alimentos (PONS; FISZMAN, 1996). A Análise do Perfil de Textura (TPA) instrumental aplica sucessivas forças deformantes, numa simulação da ação de compressão e corte dos dentes durante a mastigação (LI; CARPENTER; CHENEY, 1998).

A referida análise é realizada através de um equipamento denominado texturômetro e consiste em comprimir uniaxialmente uma alíquota de alimento duas vezes num movimento recíproco, imitando a ação da mandíbula. Desta forma, durante o teste é realizada uma primeira compressão seguida por um relaxamento e uma segunda compressão, obtendo-se ao final um gráfico (força versus tempo), do qual calculam-se os parâmetros de textura. A partir da Análise do Perfil de Textura podem ser avaliados parâmetros como dureza, coesividade, gomosidade, elasticidade, mastigabilidade, resistência e adesividade (BOURNE, 2002). Além disso, Eduardo e Lannes (2007) relataram que a força de compressão obtida a partir do texturômetro consiste em um parâmetro de elevada importância, haja visto sua utilidade no controle de qualidade de produtos em pó e sua possível relação com outros parâmetros físico-químicos como, por exemplo, o tamanho de partícula.

2.9.2 Análise do perfil de cor

Nas medidas instrumentais da cor, a reflexão da luz sobre o objeto é detectada em escala de três elementos L^* , a^* e b^* (sistema Hunter Lab e CIELAB), os quais removem a subjetividade envolvida na discussão de cor (OLIVO; GUARNIERI; SHIMOKOMAKI, 2001).

No espaço colorimétrico CIELAB, definido por L^* , a^* , b^* , a coordenada L^* corresponde à luminosidade, a^* e b^* referem-se às coordenadas de cromaticidade. A escala colorimétrica do parâmetro de luminosidade varia entre 0 e 100, na qual o zero representa a coloração preta e o 100, a coloração branca. Em contrapartida, as

escalas colorimétricas dos parâmetros a^* e b^* são caracterizadas pela coloração vermelho e amarelo, quando os valores são positivos, e verde e azul, quando os valores são negativos, respectivamente ($+ a^*$ = vermelho, $- a^*$ = verde e $+ b^*$ = amarelo, $- b^*$ = azul) (CIE, 2004).

Os resultados obtidos nas avaliações de cor e textura instrumentais podem ser correlacionados à percepção humana, permitindo a compreensão do significado dessas características na avaliação da qualidade sensorial do alimento (VIDIGAL, 2009).

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 ARTIGO 1: PREPARATION OF ADDED VALUE BYPRODUCTS FROM THE WASTE MATERIAL OF TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) PROCESSING. Published in Journal of Aquaculture Research & Development, v. 3, n. 5, p.1-5, 2012 (Paper I)

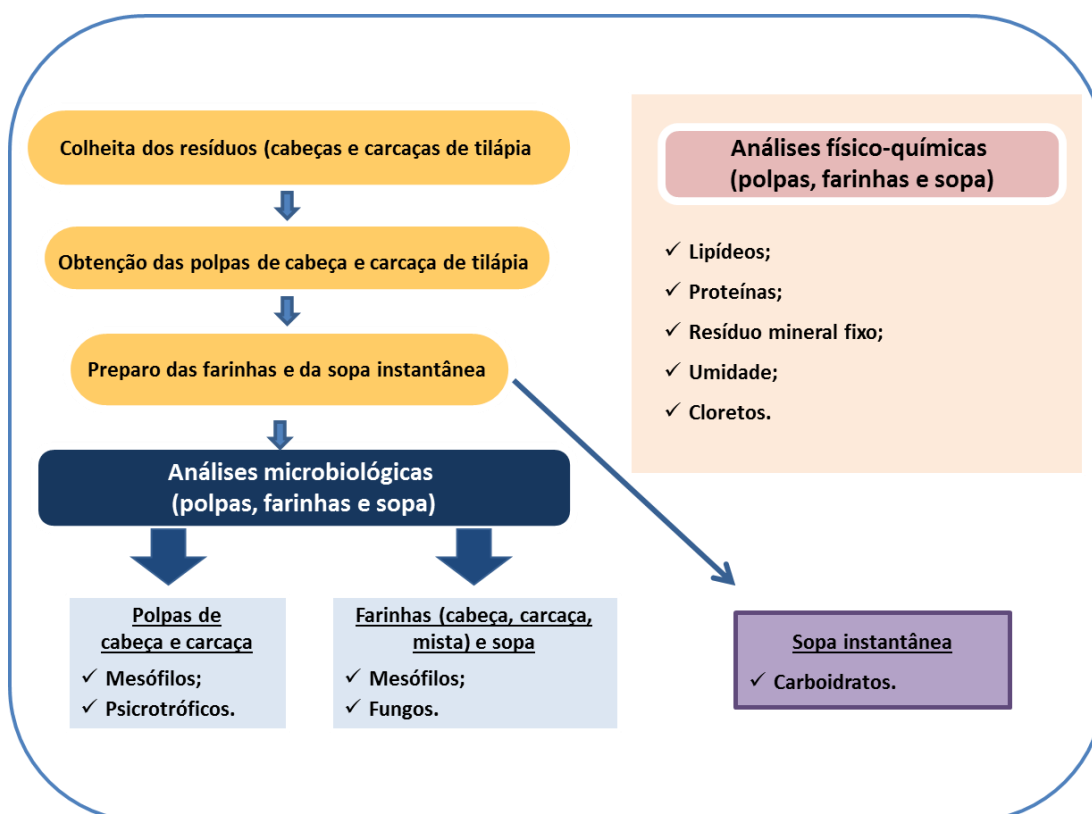


Figura 1. Desenho experimental delineado para desenvolvimento do artigo 1.

PREPARATION OF ADDED VALUE BYPRODUCTS FROM THE WASTE MATERIAL OF TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) PROCESSING

Maria Lúcia G. Monteiro^{1*}, Eliane T. Mársico², Izolda Martins Viriato³, José Marcelino Lima de Souza³ and Carlos A. Conte Júnior²

¹Post-Graduate in Food Technology –Veterinary Facult, Federal Fluminense University, Brazil

²Department of Food Technology of the Federal Fluminense University, Niterói, RJ, Brazil

³ Regional Cooperative of Fish Farmers, Japuíba, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil

*Corresponding author: Maria Lúcia G. Monteiro, Department of Food Technology,

Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil, 24230-340; 5521 2629-9545; e-mail: marialuciaguerra@yahoo.com.br

ABSTRACT

The heads and carcasses of Nile tilapia were used as the raw materials to produce pulp, flour and instant soup. Moisture, mineral, lipid, protein, and chloride analyses were performed for all of the products, and an additional carbohydrate analysis was performed for the soup product. Microbiological methods were used to analyze the mesophilic and psychrotrophic bacterial content of the pulp and the mesophilic bacteria, yeast and mold content of the flour and soup. The pulp and flour proximate composition demonstrated appropriate nutritional quality for use in human consumption or as raw materials to produce other products. The soup exhibited low lipid levels, high nutritive value in relation to protein and mineral contents, and satisfactory microbiological quality for consumers. We conclude that tilapia heads and carcasses represent viable source materials as nutritious and low-cost foods to produce new products, which can lead to social, economic and environmental benefits.

Keywords: Freshwater fish; instant soup; head and carcass wastes.

INTRODUCTION

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is the most widely bred fish species in Brazil, produced nearly nation-wide. In 2009, approximately 132.957 tons of tilapia were produced, representing 39% of pisciculture [1]. Fillets are the national preference for tilapia meat consumption, and wastes with relatively low commercial value are discarded during the filleting process. This waste disposal represents potential pollution for water resources and soil, resulting in severe environmental problems. Tilapia waste contains high protein, mineral and lipids levels. The lipids in tilapia waste include essential fatty acids, largely omega-3 fatty acids such as eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA), which have been demonstrated to reduce cardiovascular disease risk, decrease cholesterol levels, and act as cancer prevention agents in humans [2].

The use of the waste from tilapia filleting to produce fish byproducts represents an alternative financial source for industries and local fish suppliers [3]. In addition, such use could decrease environmental pollution and supply consumers with a nutritious, low-cost, easy-preparation food. Increasing the accessibility of these products could contribute to increased fish consumption in Brazil [4].

Therefore, the study aimed to develop and evaluate by chemical and microbiological methods new products, including an instant soup, produced from the heads and carcasses of tilapia (*Oreochromis niloticus*).

MATERIALS AND METHODS

Approximately 20 kg of tilapia carcasses and heads were obtained from the Regional Cooperative of Fish farmers (COOPERCRÃMMA) in Cachoeira de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. Tilapia wastes (carcasses and heads) were placed separately in a depulper. Subsequently, the pulp was placed in polyethylene bags, weighed, sealed and transported in isothermal containers with ice to the laboratory. The carcasses and head pulp were placed into proper recipient containers (layers of approximately 1 cm) and were subjected to temperatures of $180 \pm 10^\circ\text{C}$ in a conventional oven for 1 hour and 40 minutes. The mass formed during this process was then milled in multiprocessor for two minutes. Subsequently, the heating (200°C for 40 minutes) and milling procedures were repeated to obtain carcass and head flour. Next, the carcass and head flour were mixed in 6:1 ratio, respectively, and placed again in a multiprocessor for the same time as described above. To obtain instant soup, maltodextrin (41.5%), salt (3.1%), vegetable soup (9.8%), modified starch (10.4%) and dried onion (20.7%) were mixed with carcass and head flour.

The samples were separated according to the type of raw material (1– head, 2 – carcass and 3 – head and carcass) and the processing byproduct (P – pulp, F – flour and S – soup): P1 (head pulp), P2 (carcass pulp), F1 (head flour), F2 (carcass flour), F3 (head and carcass flour) and S3 (instant soup with head and carcass flour).

The moisture, lipid, protein, chloride and mineral content were calculated for all byproducts in accordance with the Association of Official Analytical Chemist Techniques [5]. In the soup byproduct, a carbohydrate analysis was also performed according to the Adolfo Lutz Institute methodology [6]. Mesophilic [7] and psychrotrophic aerobic heterotrophic bacterial counts [8] were performed in the pulp samples, and mesophilic aerobic heterotrophic bacterial, yeast and mold counts [9] were performed in the flour and soup samples. All analyses were performed in duplicate.

The results were submitted to a variance analysis at a probability level of 5% ($p < 0.05$) using Tukey's test and InStat 3.0 Program GraphPad[®].

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 presents the chemical composition values for the pulp samples (P1 and P2): 10.17% and 11.98% (protein), 16.02% and 6.94% (lipids), 2.14% and 1.37% (mineral content), 67.43% and 72.84% (moisture), respectively. Resende (2010) described similar results in mechanically deboned tilapia meat (14.63% protein, 10.07% lipid, 0.73% mineral content and 73.90% moisture). According to some authors, tilapia waste after beheading and gutting was composed of 10.75% protein, 12.99% lipid, 1.00% mineral, and 74.70% moisture contents [10]. Variations between these results were observed and can be explained by the type of waste and the exogenous (catching season, environmental conditions, feed) and endogenous factors (species-specific physiological characteristics as spawning and migration) that contribute to changes in nutritional composition [11].

Significant differences ($p < 0.05$) were observed between the composition of the two pulp samples (P1 and P2) with the exception of their protein values. An increased lipid level and, consequently, lower moisture content was observed in head pulp (P1); an inverse relationship for these same compounds was observed in carcass pulp (P2). This is commonly observed in freshwater fish [12].

Nutritionally, tilapia heads can be used to produce fish byproducts due to their high lipid content, which includes polyunsaturated fatty acids, largely the omega-6 (n-6) and -3 (n-3) fatty acids that exhibit human health benefits [2].

According to the same author, tilapia heads exhibit high mineral levels dominated by calcium, iron and phosphorus [2]. This property could contribute to the increased mineral content observed in the head pulp (P1) in comparison with the carcass pulp (P2). Although the variation values described in literature vary according to the extrinsic and intrinsic factors mentioned above, the nutritional composition of tilapia waste (head and carcass pulp) is comparable to the nutritive data of tilapia fillets described by others authors. Nutritive values of 83.6% (moisture), 1.6% (mineral content), 1.4% (lipid) and 13.7% (protein) [13]. Therefore, head and carcass pulp may represent a more significant lipid, particularly polyunsaturated fatty acids [14], and mineral source in comparison to fillets.

Table 1 demonstrates that there were significant differences ($p < 0.05$) in the composition of the pulps (P1 and P2) and flour (F1, F2 e F3) samples, likely due to the heating step. The heating step removes free water and some of the weakly bound water from the food, decreasing the moisture and, consequently, increasing the concentration of the nutritional constituents in the dried products (flours), a fact described by some authors, who determined the proximate composition of tilapia protein concentrate prepared from mechanically deboned meat submitted to successive washing and drying in an oven with forced circulation at 65°C for three hours [15].

The proximate composition of tilapia heads has been reported as 16.48% protein, 9.56% lipid, 5.72% mineral content and 67.24% moisture [14]. Tilapia head flour was evaluated by some authors and revealed a composition of 38.41% (protein), 35.46% (lipid), 19.38% (mineral content) and 6.01% (moisture) [16]. These values differ from the moisture, mineral and lipid composition observed in this study. According to some researchers, there is direct relationship between fish nutritional parameters and their diet and environment, including those fish cultivated with optimal control of rearing conditions. Another important factor to consider is the wide variation in the mineral content in this experiment compared with the results described by the author mentioned above [17]. This discrepancy can be explained by the amount of residue obtained, which may vary according to head size, fish weight, and rearing system, as well as the technological aspects related to the type of cut, the press for oil removal, the system for meat separation in different equipment, etc. [18]. Due to the factors previously mentioned, there is disagreement in the proximate composition of tilapia waste reported in the literature [19,20,21,22]. The composition of 50.37% protein, 21.77% lipid, 18.75% mineral and 5.90% moisture was observed in tilapia waste flour [19], whereas values of 56%, 16%, 22% and 4% for proteins, lipids, minerals and moisture were described by others authors [20]. 65.69% (protein), 10.54% (lipid), 17.05% (mineral content) and 5.60% (moisture) was observed in flour from tilapia after the gutting and washing processes [21]. The proximate composition of tilapia flour was evaluated and reported 77.96% protein, 9.43% lipid, 13.98% mineral content and 2.22% moisture [22].

Table 1 presents the moisture and mineral content results of instant soup prepared from head and carcass flour (S3), which differed significantly ($p < 0.05$) from the content of the pulp (P1 and P2) and flour (F1, F2 and F3) samples. Compared with the other byproducts (pulp and flour), the average moisture of the soup was of an intermediate value. Instant soup (S3) exhibited a mineral content higher than the pulp (P1 and P2) and flour (F1, F2 and F3) samples, representing a higher mineral content in the final product. The soup was determined to be nutritionally relevant by a proximate composition analysis. This analysis revealed the total lipid level to be less than the average value in the byproducts prepared with the waste from tilapia processing (P1, P2, F1, F2 and F3), contributing to a product with low lipid levels and a significant percentage of polyunsaturated fatty acids, especially linoleic acid and

alpha-linolenic acid, as well as high levels of omega-3 fatty acids, mainly eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) [2,16].

Significant differences ($p < 0.05$) were observed between the protein content of the pulp (P1 and P2) samples and that of other the products (F1, F2, F3 and S3), which exhibited a higher protein content than the pulps, possibly due to the concentration of the solid constituents of the byproducts during the heating step. There was no significant difference ($p > 0.05$) between the F2 (carcass flour) and F3 (head and carcass flour) flour samples, but significant differences ($p < 0.05$) were observed between the head flour (F1) and the other (F2 and F3) flour samples. This latter result supports the use both residues, head and carcass, in instant soup preparation (S3) for two reasons. First, the protein levels in the soup were similar to the maximum protein values found in the flours (F2 and F3); thus, the mixing of both residues can create a product with a high level of animal-origin protein. Additionally, the use of both residues is low-cost and consequently reduces further environmental impact. The flour with tilapia head is a product with high levels of proteins, minerals and lipids, notably essential fatty acids. Tilapia heads could be used as low-cost raw materials to prepare food products, thereby adding more value to fish waste and decreasing environmental pollution [14]. A study concluded that the flours and others nutritive products produced from gutted and washed tilapia are a viable alternative to preparing fish byproducts [21].

There was no significant difference ($p > 0.05$) between the chloride content of the pulp (P1 and P2) samples, which were determined to be 0.17% and 0.13%, respectively. The chloride content of the pulp, flour or soup from the wastes of freshwater fish filleting are rarely found in the literature. The values observed in this study are lower than the results equal to 0.38% in tilapia cold fillets related in literature [23]. Chloride levels equal to 0.70% was observed in the same product [13], possibly due to the addition of salt (0.3 to 0.6%) in fish depuration during the transport step. This procedure is frequently performed to prevent white spot lesions and external fungal and bacterial infections to decrease fish mortality during transport [24]. There was no way to control this step because the samples were obtained in a cooperative. Furthermore, water used in the processing of foods of animal origin must adhere to the current standards and rules of water potability intended for human consumption, which allow the addition of some salts like calcium, magnesium, potassium and sodium chlorides [25] to a maximum value of 250 mg of chlorides/L [26]. These facts explain the pulp (P1 and P2) chloride content observed in this experiment. There were significant differences ($p < 0.05$) between the pulp (P1 and P2) sample results and the chlorides values in all of the flour (F1, F2 and F3) samples due to the heating process. There were no significant differences ($p > 0.05$) among the chlorides levels in the flour (F1, F2 and F3) samples, which were 0.46%, 0.49% and 0.47%, respectively.

The soup (S3) samples possessed chloride values (8.29%) higher than all of the other byproducts (P1, P2, F1, F2 and F3) did. Therefore, a significant difference ($p < 0.05$) was observed between the chloride content of soup versus other products, possibly due to the addition of ingredients like salt and vegetable soup. According to the World Health Organization (WHO), levels in excess of 6 g NaCl/day/person are not recommended [27]. In this context, the great challenge of the food industry has been to develop products with the flavor that consumers expect and, simultaneously, to reduce the amount of salt and the association of certain products with diseases like hypertension [28]. Therefore, it is suggested that the instant soup could be reformulated by replacing or removing only those ingredients that affect the sodium chloride level to obtain a new, innovative and healthy product.

There are no reports in the literature of the carbohydrate content in instant soup prepared from tilapia waste. The carbohydrate content of the instant soup was 24.27% due to the addition of ingredients like modified starch and maltodextrin in a 10.4% and 41.5% ratio, respectively. Starch represents an important energy source and has nutritional relevance and an important

technological role in processed foods [29]. Starch has thickening power, provides texture, suspends solids, facilitates the processing or the protection of the food during processing, and consequently plays an important role in the composition of a large number of processed foods [30]. Maltodextrin is a starch hydrolysis product and has the ability to reproduce the sensation of fat due to the dimensional network formed during the gelation process [31]. Modified starch and maltodextrin were used to provide consistency and solubility in instant soup after reconstitution with water.

The soup made with fish and rice flour was evaluated and observed carbohydrate values equal to 76.32% [32]. This value is higher than that observed in our study, possibly due to the rice utilized in the formulation of their soup. According to the Brazilian Table of Food Composition [33], the composition of rice is approximately 79.0% carbohydrate and therefore represents a product with a high concentration of carbohydrates.

Table 2 presents the results of our microbial analysis. Brazilian legislation does not provide limits for mesophilic and psychrotrophic aerobic heterotrophic bacterial count in fish products. Therefore, a maximal limit of 7.0 log CFU/g was established for this study in accordance with data described by the International Commission on Microbiological Specifications for Foods [34]. The most foods have sensory detectable changes when a bacterial load greater than 10^6 CFU/g is present [35]. The maximal limit for yeast and mold in flours and dried soups is 3 Log CFU/g [36].

Mesophilic bacterial values were 4.8 and 4.7 Log CFU/g for the pulp (P1 and P2) samples, respectively, and were thus below the acceptable limit (7.0 Log CFU/g). There was no significant difference ($p > 0.05$) between both of the pulp (head and carcass) samples (table 2). After the death of a fish, the gills represent one of the most important routes of bacteria penetration into the fish's muscle [37]. Therefore, the head pulp (P1) is expected to exhibit a higher bacterial load than that of the carcass waste, a fact that was not observed in this study. This finding demonstrates that the use of heads is viable option in the preparation of fish products. There is no data in the literature concerning the mesophilic aerobic heterotrophic bacterial count in tilapia head pulp, but there are reports of an association of these bacteria with mechanically deboned meat prepared from other processed wastes.

The pulp obtained from residual meat on tilapia spines was evaluated after the filleting process and observed a variation of 6.38 Log CFU/g (minimum value) to 9.04 Log CFU/g (maximum value) in the mesophilic aerobic heterotrophic bacterial count [38]. These values are greater than those obtained in this experiment (4.8 Log CFU/g); thus, the adoption of hygienic and sanitary procedures is extremely relevant to reduce bacterial counts [39]. These results and those of authors previously cited emphasize that tilapia heads can be used as low-cost raw materials to prepare food products, adding value to fish waste and decreasing environmental pollution [14].

Table 2 presents the results of the mesophilic bacterial analysis of the head flour (F1), carcass flour (F2) and flour prepared with both wastes (F3): 3.5, 3.4 and 3.5 Log CFU/g, respectively. These values were within the limit established in this study, providing evidence of favorable hygienic and sanitary conditions in the materials processing and, consequently, allowing for their consumption and use as raw materials to preparing new products. Tilapia head flour has been previously reported to exhibit a mesophilic bacterial count of approximately 4.0 Log CFU/g (4.48 Log CFU/g) [16]. These data are in accord with those described by some authors, which evaluated fish burgers from mechanically deboned tilapia meat and observed mesophilic bacterial counts of approximately 4.0 Log CFU/g (4.35 Log CFU/g) [40].

There were no significant differences ($p > 0.05$) among the flour (F1, F2 and F3) samples, but there were significant differences ($p < 0.05$) between the pulp (P1 and P2) and flour (F1, F2 and F3) samples. Mesophilic bacterial counts in the flour (F1, F2 and F3) samples were lower than those of the pulp (P1 and P2) samples. This difference was possibly due to a decreased

bacterial load caused by the heating process used in flour preparation, which aims to eliminate or reduce the microorganisms responsible for spoilage and/or the potential pathogens in the food. The mesophilic bacterial count in the soup (S3) was 3.6 Log CFU/g, also below the limit established in this experiment. Therefore, the soup can be characterized as an appropriate food for human consumption. It can be inferred that the ingredients added to this product (S3) did not permit any cross-contamination after the flour-heating step, which would render the instant soup unfit for consumption.

Table 2 also presents the psychrotrophic aerobic heterotrophic bacterial counts. There was no significant difference ($p>0.05$) between the head pulp (P1) and carcass pulp (P2), and neither exceeded the bacterial limit (7.0 Log CFU/g). In a study evaluating the hazards and control points in the tilapia filleting process, who was considered one of the critical control points, emphasizing the importance of establishing preventive measures like proper hygienic and sanitary practices and personal training [41] for fish wastes that are submitted to intense handling [42]. Thus, the evaluation of the levels of psychrotrophic bacteria in fish is important because these microorganisms are responsible for several sensory changes in refrigerated products [35]. The pulp obtained from residual meat from tilapia spines was evaluated and the variation in the psychrotrophic values (7.04 and 11.57 Log CFU/g) was similar to the results of our experiment [38]. The psychrotrophic bacteria count was performed in mechanically deboned tilapia meat after beheading and gutting and the authors found 2.54 Log CFU/g [43]. This difference can be explained by the variations in good management practices adopted for each study.

There were no significant differences ($p>0.05$) between the flour (F1, F2 and F3) and soup (S3) samples in the yeast and mold counts, but the counts exceeded the limit established in this experiment (3.0 Log CFU/g). Fungal development promotes deterioration in foods of animal origin, and yeast and mold counts are necessary to obtain information concerning the hygienic conditions of the processing, transport and storage of foods [9]. Furthermore, some fungal species, mainly the *Penicillium*, *Aspergillus* and *Fusarium* genera, are considered relevant mycotoxin-producing organisms [44]. Some authors found no yeast or mold development in tilapia flour [22], whereas others researchers observed values in excess of 3.0 Log CFU/g (maximum limit) in wheat flour, indicating some level of yeast and mold contamination in this product [45]. These results can be explained by processing, handling and storage deficiencies. Moreover, these microorganisms are resistant and can remain viable over long periods of time at low concentrations, even if the product is properly packed and free moisture [46]. The study of microorganisms involved in food production and deterioration is extremely important for the industry because knowledge of the metabolic and physiological characteristics of microorganisms promotes the use of proper techniques for food processing and preservation, ensuring appropriate microbiological quality and avoiding damage to public health [35].

CONCLUSIONS

We conclude that the processing of tilapia heads and carcasses in the form of pulp and flour produces high nutritive value foods with suitable protein content and satisfactory microbiological quality. Instant soup prepared from these raw materials exhibits low lipid levels, excellent protein and mineral content and satisfactory microbiological quality.

Tilapia heads and carcasses demonstrate viable, alternative low-cost raw materials to produce new products, thereby decreasing environmental pollution, adding value to fish wastes, increasing industry profits and providing consumers with an easy-to-prepare, low-cost and nutritious food.

ACKNOWLEDGMENT

The authors are thankful for the financial support of the Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), process number E-26/111.196/2011. The authors M.L.G. Monteiro and J.M.L. Souza were supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), process number 551079/2011-8. The Cooperativa Regional de Piscicultores e Ranicultores do Vale do Macacu e Adjacências is gratefully acknowledged for providing samples.

REFERENCES

1. MPA 2010 Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura.
2. Stevanato FB, Petenucci ME, Matsushita M, Mesomo MC, Souza NE, Visentainer JEL, Almeida VV, Visentainer JV (2007) Avaliação química e sensorial da farinha de resíduo de tilápias na forma de sopa. *Ciênc Tecnol Aliment* 27: 567-571.
3. Vaz SK (2005) Elaboração e caracterização de lingüiça fresca “tipo toscana” de tilápia (*Oreochromis niloticus*).
4. Kristbergsson K, Arason S (2007) Utilization of by-products in the fish industry. In *Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry*. Springer, New York, NY, USA.
5. Cunniff PA (1998) *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
6. IAL (2008) *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brazil.
7. Morton RD (2001) Aerobic plate count. In *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. APHA - American Public Health Association eds., Washington.
8. Cousin MA, Vasavada PC (2001) Psychrotrophic microorganisms. In *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. APHA - American Public Health Association eds., Washington.
9. Beuchat LR, Cousin MA (2001) Yeasts and molds. In *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. APHA - American Public Health Association eds., Washington.
10. Sary C, Francisco JGP, Dallabona BR, Macedo REF, Ganeco LN, Kirschnik PG (2009) Influência da lavagem da carne mecanicamente separada de tilápia sobre a composição e aceitação de seus produtos. *Rev Acad Ciênc Agrár Ambient* 7: 423-432.
11. Boran G, Karaçam H (2011) *Turk J Fish Aquat Sci* 11: 01-05.
12. Maia VL, Oliveira CCS, Santiago AP, Cunha, FEA, Holanda FCAF, Sousa JA (1999) Composição química e classes de lipídios em peixe de água doce Curimatã comum, *Prochilodus cearenses*. *Ciênc Tecnol Aliment* 19: 433-437.
13. Espírito Santo MLP, Vivian V, Mirapalheta T, Carbonera N, Coelho G, Damian C (2007) Chemical, physical and microbiological changes in tilapia (*Oreochromis niloticus*) during marination. *Alim Nutr* 18: 1-5.

14. Stevanato FB, Almeida VV, Matsushita M, Oliveira CC, Souza NE, Visentainer JV (2008) Fatty acids and nutrients in the flour made from tilapia (*Oreochromis niloticus*) heads. *Ciênc Tecnol Aliment* 28: 440-443.
15. Vidal JMA, Rodrigues MCP, Zapata JFF, Vieira JMM (2011) Concentrado protéico de resíduos da filetagem de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização físico-química e aceitação sensorial. *Rev Ciênc Agron* 42: 92-99.
16. Stevanato FB, Cottica SM, Petenucci ME, Matsushita M, Souza NE, Visentainer JV (2010) Evaluation of processing, preservation and chemical and fatty acid composition of Nile tilapia waste. *J Food Process Preserv* 34: 373-383.
17. Ravichandran S, Kumaravel K, Florence EP (2011) Nutritive composition of some edible fin fishes. *Int J Zool Res* 7: 241-251.
18. Vidotti RM (2011) Tecnologias para o aproveitamento integral de peixes. Curso Técnica de Manejo em Piscicultura Intensiva.
19. Boscolo WR (2003) Farinha de resíduos da indústria de filetagem de tilápias na alimentação da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus* L.) <http://www.uem.br/> (accessed July 5, 2011).
20. Vidotti RM, Gonçalves GS (2006) Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal.
21. Oyelese OA, Odubayo OO (2010) Shelf-life of fishmeal, paste and cake of tilapia niloticus and supplementation of conventional fishmeal with tilapia fishmeal in the diet of *Clarias gariepinus* fingerlings. *J Food Process Preserv* 34: 149-163.
22. Rocha JBS (2011) Utilização de tilápias de baixo valor comercial como fonte protéica na formulação de biscoitos e sopas para a merenda escolar.
23. Dale NM, Zumbado M, Gernat AG, Romo G (2004) Nutrient Value of Tilapia Meal. *J Appl Poult Res* 13: 370-372.
24. Kubitzka F (2007) A versatilidade do sal na piscicultura. *Panorama da Aquicultura*.
25. ANVISA (1999) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 309, de 16 de julho de 1999. Regulamento Técnico referente a Padrões de Identidade e Qualidade para "Água purificada adicionada de sais".
26. ANVISA (2000) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria MS nº 1.469, de 29 de dezembro de 2000. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências.
27. Guimarães FSF, Abud APR, Oliveira SM, Oliveira CC, Cesar B, Donatti L, Gabardo J, Trindade ES, Buchi DF (2009) Stimulation of lymphocyte anti-melanoma activity by co-cultured macrophages activated by complex homeopathic medication. *BMC Cancer* 9: 1-12.
28. Nascimento R, Campagnol PCB, Monteiro ES, Pollonio MAR (2007) Substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio: influência sobre as características físico-químicas e sensoriais de salsichas. *Alim Nutr* 18: 297-302.
29. Sandhu KS, Singh N, Kaur M (2004) Characteristics of the different corn types and their grain fractions: physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches. *J Food Engin* 64: 119-127.

30. Serrano PO, Franco CML (2005) Modificação hidrotérmica annealing e hidrólise enzimática do amido de mandioca. *Braz J Food Technol* 8: 220-232.
31. Loret C, Meunier V, Frith W J, Fryer P J (2004) Rheological characterization of the gelation behaviour of maltodextrin aqueous solution. *Carbohydrate Polymers* 57: 153-163.
32. Neiva CRP (2008) Processamento, avaliação nutricional e aceitabilidade de produtos à base de pescado desidratado: sopa e biscoito.
33. TACO (2011) Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP eds.), Campinas, São Paulo, Brazil.
34. ICMSF (1986) International Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Microorganisms in Foods, 2: Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications*. Blackwell Scientific Publications, London.
35. Franco BDGM, Landgraf M (1996) *Microbiologia dos Alimentos*. Editora Atheneu, São Paulo, Brazil.
36. ANVISA (1978) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNNPA nº. 12 de 24 de julho de 1978. Normas Técnicas Especiais.
37. Barros CG (2003) Perda da Qualidade do Pescado, Deterioração e Putrefação. *Rev Cons Fed Med Vet* 2: 59 –66.
38. Mello SCRP, Freitas MQ, Clemente SCS, Franco RM, Nogueira EB, Pinto MDSR (2010) Caracterização química e bacteriológica de polpa e surimi obtidos do espinhaço residual da filetagem de tilápia. *Cienc Rural* 40: 648-653.
39. Samakupa AP, Einarsson H, Eypórsdóttir A (2003) Hygiene indicators in a fish processing establishment-a case study in a white fish processing establishment. Fisheries Training Programme, The United Nations University, NAMBIA.
40. Marengoni NG, Pozza MSS, Braga GC, Lazzeri DB, Castilha LD, Bueno GW, Pasquetti T Jr, POLESE C (2009) Caracterização microbiológica, sensorial e centesimal de fishburgers de carne de tilápia mecanicamente separada. *Rev Bras Saúde Prod Anim* 10:168-176.
41. Carbonera N, Mirapalheta T, Vivian VB, Espírito Santo MLP (2006) Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle no Processamento de Filés Congelados de Tilápia (*Oreochromis niloticus*).
42. Boscolo WR, Feiden A (2007) Industrialização de tilápias. GFM Gráfica & Editora, Toledo.
43. Kirschnik PG, Macedo-Viegas EM (2009) Efeito da lavagem e da adição de aditivos sobre a estabilidade de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante estocagem a –18 °C. *Ciênc Tecnol Aliment* 29: 200-206.
44. Nunes IL, Magagnin G, Bertolin TE, Furlong EB (2003) Arroz comercializado na região sul do Brasil: aspectos micotoxicológicos e microscópicos. *Ciênc Tecnol Aliment* 23: 190-194.
45. Tasca ACO, Moura AC (2012) Análise Microbiológica da Farinha de Trigo (*Triticumaestivum L.*) comercializada na município de Cascavel – PR.
46. Ferreira Neto CJ, Figueirêdo RMF, Queiroz AJM (2005) Avaliação sensorial e da atividade de água em farinhas de mandioca temperadas. *Cien Agrotec* 29: 795-802.

Table 1. Chemical analysis byproducts from tilapia (*Oreochromis niloticus*) processing

Products	Protein (%)	Lipid (%)	Minerals (%)	Moisture (%)	Chloride (%)
P1	10.17 ^a ± 0.13	16.02 ^a ± 0.06	2.14 ^a ± 0.06	67.43 ^a ± 1.15	0.17 ^a ± 0.04
P2	11.98 ^a ± 1.25	6.94 ^b ± 1.13	1.37 ^b ± 0.01	72.84 ^b ± 0.62	0.13 ^a ± 0.10
F1	37.10 ^b ± 0.85	56.35 ^c ± 0.07	4.48 ^c ± 0.02	1.98 ^c ± 0.01	0.46 ^b ± 0.00
F2	58.82 ^c ± 1.05	26.04 ^d ± 0.62	3.42 ^d ± 0.02	5.05 ^d ± 0.21	0.49 ^b ± 0.01
F3	56.15 ^c ± 1.35	30.14 ^e ± 0.34	3.89 ^e ± 0.01	4.01 ^{cd} ± 0.04	0.47 ^b ± 0.01
S3	51.66 ^d ± 0.01	6.81 ^{bf} ± 0.08	10.00 ^f ± 0.12	7.26 ^e ± 0.06	8.29 ^c ± 0.12

P1 = head pulp, P2 = carcass pulp, F1 = head flour, F2 = carcass flour, F3 = head and carcass flour, S3 = instant soup with head and carcass flour.

Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$).

Table 2. Microbiological analysis of byproducts from tilapia (*Oreochromis niloticus*) processing

Products	Mesophilic bacteria*	Psychrotrophic bacteria*	Yeast and molds*
P1	4.8 ^a ± 0.04	3.2 ^a ± 0.01	UR
P2	4.7 ^a ± 0.04	3.0 ^a ± 0.02	UR
F1	3.5 ^b ± 0.02	UR	3.5 ^a ± 0.01
F2	3.4 ^b ± 0.01	UR	3.6 ^a ± 0.40
F3	3.5 ^b ± 0.02	UR	3.5 ^a ± 0.01
S3	3.6 ^b ± 0.03	UR	3.4 ^a ± 0.10

P1 = head pulp, P2 = carcass pulp, F1 = head flour, F2 = carcass flour, F3 = head and carcass flour, S3 = instant soup with head and carcass flour.

UR: unrealized.

* Values expressed in cfu/g (colony-forming units per gram).

Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$).

3.2 ARTIGO 2: PRODUCTS-BASED OF WASTES TILAPIA AS HEALTHY ALTERNATIVES FOR FOOD INDUSTRIES. Submitted to Food Science and Technology (Paper II)

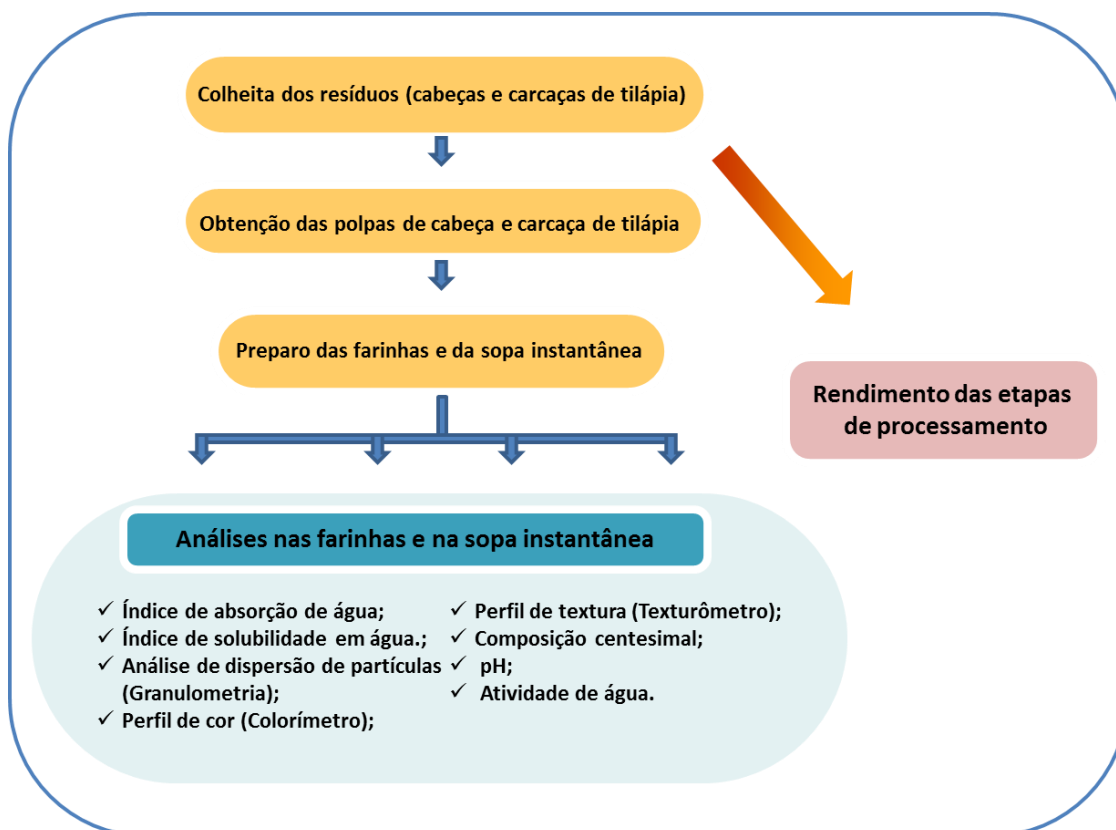


Figura 2. Desenho experimental delineado para desenvolvimento do artigo 2.

Products based on tilapia wastes as healthy alternatives for the food industry

M. L. G. Monteiro^{a*}, E. T. Mársico^a, C. A. Lázaro^b, R. O. R. Ribeiro^a, R. S. Jesus^c, C. A. Conte-Júnior^a

^a *Department of Food Technology, Faculty of Veterinary Medicine, University Federal Fluminense, Vital Brazil Filho 64, zip code: 24230-340, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil*

^b *Faculty of Veterinary Medicine, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Circunvalación Cdra. 28 s/n, P.O, zip code: 03-5137, San Borja, Lima, Perú*

^c *Food Technology, National Institute of Research Amazonia, Av. André Araújo, 2936 - INPA/CPTA, zip code: 478, Aleixo, Manaus, Brazil*

*Corresponding author Tel: + 55-021-2629-9545, FAX: + 55-021-2629-9541

E-mail address: marialuciaguerra@yahoo.com.br

Abstract

The objective of this study was to perform a nutritional and technological characterization of value-added products from tilapia wastes that have partial replacement potential for products commonly used by the food industry. Flours and instant soup were produced from tilapia wastes. Physical, chemical, and instrumental analyses were performed and correlated. All products displayed high nutritional value compared with similar products already commercialized by the food industry. These products also displayed promising technological characteristics such as water absorption index (WAI), particle size average (PSA), water activity (A_w), and pH, which are relevant parameters for the elaboration of innovative food formulation. We concluded that instant soup and flours from tilapia wastes can be used in the food industry either for development and introduction of new food products on the market or for the replacement in current food products made from conventional flour sources, producing a healthy alternative on consumers.

Keywords: *Oreochromis niloticus*; freshwater fish; flour; instant soup; proximate composition; particle size

1. Introduction

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is the most commonly farmed fish in Brazil, reaching nation-wide distribution. In 2010, approximately 155 mil tons of tilapia were produced, representing 39.4% of freshwater fish farming (Brazil, 2012). Nevertheless, one of the less desirable characters of tilapias is their low fillet yield (Fitzsimmons et al., 2011).

Filletts are the national and international preference for tilapia meat consumption, but wastes with relatively low commercial value represent approximately 65% of processing and are usually discarded resulting, in severe environmental problems (Boscolo and Feiden, 2007). However, wastes from tilapia processing have high nutritive value, containing high protein, ash, and lipid levels (Monteiro et al., 2012a). The lipids in tilapia wastes include essential fatty acids, largely omega-3 fatty acids such as eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA), which have been demonstrated to reduce cardiovascular disease

risk, decrease cholesterol levels, and act as cancer prevention agents in humans (Stevanato et al., 2010).

Industry has an interest in raw material and foods in a powder form (premixes for use in pasta or bakery products and instant soups) due to greater chemical and microbiological stability as well as easy product storage, packing, handling and transportation (Eduardo and Lannes, 2007). In this context, some authors have evaluated the replacement of flours generally used by others flours with greater nutritious and technological potential (Andualem and Gessesse, 2013 and Gujral et al., 2013). However, there still are no studies examining ingredients replacing flours from fish wastes.

The analyses of physical and chemical properties of powder materials are important because the knowledge of these parameters can be helpful in characterizing powder products and for understanding their behavior during production steps and their effects in the final products (Park et al., 2013). Moreover, this information can help reduce costs, help to propose an improved formulation, and promote optimization in the processing phases and product storage (Fitzpatrick and Ahrné, 2005). Compression force and particle size are useful for quality control of the powder materials and can be related to the other physical and chemical properties of these products (Eduardo and Lannes, 2007). In addition, flour is one of the powder products widely used as an ingredient of products in different sectors of the food industry. Powder nutritional quality strongly depends to chemical composition, which may be significantly changed by processes such as milling and heating. Therefore, the characterization of flours is interesting for application in the food industry (Hager et al., 2012).

Currently, the trend has been to produce health-based products and healthy ingredients that can be incorporated into foods considered by consumers to be a “fattening food” (Krishnana and Prabhasankara, 2012). Fish is highly perishable but conservation methods, such as drying (Ogbonnaya and Ibrahim, 2009), could be applied to maintain stability during storage and increase shelf life (Monteiro et al., 2012b). Therefore, elaboration of potential ingredients or new products in powder form by using tilapia wastes may be an alternative to increase the added-value of products, avoid economic loss to the fish industry, reduce environmental impact, and supply consumers with a nutritious, low-cost, long shelf-life and easy preparation food (Boscolo and Feiden, 2007 and Ogbonnaya and Ibrahim, 2009).

In this context, the aim of this study was to perform a nutritional and technological characterization of value-added products from tilapia wastes that have partial replacement potential for products commonly used by the food industry.

2. Material and Methods

2.1 Tilapia wastes

Approximately 25 kg of whole tilapia were obtained from a commercial fish processing plant in Rio de Janeiro, Brazil. The samples were harvested twice, but in the same period (August), to avoid any effects of seasonal variations such as ambient temperature, humidity, and precipitation. The mean weights of the first and second harvest were 619 (± 52) and 622 (± 49) g for whole fish, respectively, and the mean weights of the first and second harvest were 173 (± 9) and 175 (± 11) g for filleted fish, respectively. The mean weights of the two harvests of samples did not significantly differ. After the filleting process, wastes were transferred to a processing plant. Heads and carcasses were weighed and placed separately in a depulper to obtain pulps. These products were placed in a polyethylene bag, weighed, sealed, kept on ice ($0 \pm 1^\circ\text{C}$) and transported to the laboratory. The period from harvest to arrival to the laboratory did not exceed three hours.

2.2 Preparation of flours and instant soup

Flour preparation was performed according Stevanato et al. (2010) with modifications. The pulps of heads and carcasses were placed separately into proper recipient containers (layers of approximately 1 cm) and were subjected to heating in oven with controlled temperature (180°C) for 100 min, and then the mass formed during this process was milled in a multiprocessor for two min. Subsequently, a second heating (200°C for 40 min) and milling procedures were repeated to obtain head and carcass flours. Next, the head and carcass flours were mixed in a 7:1 ratio and placed again in a multiprocessor for the same time as described above to obtain a primary product, instant soup. For this preparation, ingredients were added to the head and carcass flours (Table A. 1). The products were labeled F1 (head flour), F2 (carcass flour), F3 (head and carcass flour), and S3 (instant soup from flour made with heads and carcasses).

2.3 Processing yield

The whole fish, tilapia heads, tilapia carcasses, head pulp, carcass pulp, head flour, carcass flour, head and carcass flours, and instant soup were weighed. The processing yield was calculated from weight of each waste or final products multiplied by 100 and divided by the weight of their precursor product (Rutten et al., 2004).

2.4 Proximate composition, A_w and pH

A_w was measured with a Pawkit water activity meter (Decagon Devices, Pullman, WA, USA) in accordance with the manufacturer's instructions. Moisture, protein, lipids and ash content were performed according to the specifications of the Association of Official Analytical Chemist Techniques (AOAC, 2000). For the instant soup, total carbohydrate analysis was performed according to the methodology proposed by the Adolfo Lutz Institute (Brazil, 2008), whereas for all flours, the total carbohydrate level was calculated by difference following the equation $\% \text{ carbohydrates} = 100\% - (\% \text{ protein} + \% \text{ lipid} + \% \text{ moisture} + \% \text{ ash})$ (Merrill and Watt, 1973).

The pH values were measured after homogenization of each 10 g of muscle sample in 90 mL of distilled water (Conte-Júnior et al., 2008). A digital pH meter (Digimed® DM-22) equipped with a DME-R12 electrode (Digimed®) was used. Each analysis was performed three times for each sample on each sampling day.

2.5 Particle size distribution, particle size average, water absorption and solubility indices

For particle size distribution analysis, a test sieving procedure was performed with a Granutest (Produtest®) according to the method of Eduardo and Lannes (2007). The samples (100 g) were placed on the equipment, and the sieve opening sizes were 1000, 500, 250, 125, and 62 μm . A semi-analytical balance with 0.001 g precision was used for quantification of mass retained in the sieves. The results were obtained from the mean of four measurements made for each sample on each sampling day. The particle size average (PSA) was calculated using the following equation:

$$\text{PSA } (\mu\text{m}) = \frac{\text{total percentage retained} \times \text{sieve average opening}}{100}$$

100

Water absorption and water solubility indices were determined according to Sosulski (1962) and Anderson et al. (1969), respectively. The water absorption and water solubility

index values were obtained from the mean of four measurements made for each sample on each sampling day.

2.6 Instrumental texture analysis

Compression force was measured by using a texture analyzer model TA.XT plus (Stable Micro System, Surrey, UK) and analyzed by Texture Expert for Windows (R, Stable Micro System). The samples were placed into a cylindrical acrylic cup with a maximum volume of 30 mL, and a compression disk (25 mm diam.) was used. The test was conducted under the following conditions: pre-test speed, 10 mm/s; test speed, 2 mm/s; post-test speed, 10 mm/s; time between compressions, 5 s; distance, 5 mm; and compression 50% of original sample weight. The sample was deposited into the sample container and a compression test extruded the product up and around the edge of the disk, according to Eduardo and Lannes (2007) with modifications. Ten repetitions were performed for each group on each sampling day.

2.7 Instrumental color analysis

Color parameters were measured at four random locations on the surface of each sample on each sampling day using a Konica Minolta CR-400 colorimeter (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan) that was previously calibrated with illuminant D65, a 8-mm diameter aperture, and a 2° standard observer (AMSA, 2012). The results are expressed in L^* (lightness; 0 = black, 100 = white), a^* (+ a^* = redness, - a^* = greenness) and b^* (+ b^* = yellowness, - b^* = blueness) values.

2.8 Statistical analysis

The experiment was repeated twice, providing two replicates ($n = 2$). One-way ANOVA was performed to compare the mean of each analysis between treatments. Data were analyzed using GraphPad Prism[®] (GraphPad Software, San Diego, California, USA) at a 95% confidence level. Principal component analysis (PCA) and Pearson's correlation were performed to correlate the results of physical and chemical analyses, except for processing yield data, instrumental color and texture. Partial least square regression (PLS) was used to explore the relationships between the same data. PCA, PLS and Pearson's correlation were performed using XLSTAT version 2012.6.08 (Addinsoft, Paris, France) software.

3. Results and Discussion

3.1 Processing yield

Table A. 2 shows the processing yield of different products. Rutten et al. (2004) evaluated tilapia samples with a 700 g average weight and found a fillet yield ranging between 34.5 to 37.8%. Peterman and Phelps (2012) studied tilapia where the weight of pre-processed fish ranged from 403.8 to 434.2 g and concluded that the fillet yield was between 29.6 to 33.1%. Variations between these results were observed and can be explained by differences in food intake, diet, size, age, sex, season of capture and environmental conditions (Sulieman and James, 2011).

Most authors have evaluated whole fish weight and fillet weight, with little data concerning head and carcass yields in literature (Peterman and Phelps, 2012 and Rutten et al. 2004). There are no reports concerning yields of head pulp, carcass pulp, head flour, carcass flour, flour of head and carcass, and instant soup. However, our results (Table A. 2) suggest that the transformation of heads and carcasses into pulps and flours is a viable alternative for the food industry, after taking into account its possible use as ingredient and easy processing, handling and storage. Soup yield was 416%, suggesting the potential of this product to improve profitability in the food industry.

3.2 Proximate composition

Table A. 3 shows the protein, lipid, ash, moisture and carbohydrate content. F1 had the highest lipid level, lowest protein and moisture content and intermediate values of carbohydrates compared with other products. No difference ($P > 0.05$) was observed in protein and moisture values among F2, F3, and S3. Instant soup displayed lower lipid content and higher carbohydrate levels, whereas F2 and F3 had intermediate values of these compounds compared with other treatments. F1 and S3 displayed higher ash content than F2 and F3.

Our findings indicated that all flours and instant soup had higher nutritional value when compared with several types of flours reported previously in the literature (Kaur et al., 2013 and Skendi et al., 2010), including gluten-free products (Hager et al., 2012).

Hager et al. (2012) studied the nutritional value of commercial gluten-free flours from different botanical sources (quinoa, sorghum, corn, rice, and oats) and concluded that even though most gluten-free products are based on rice or corn flour, other flours especially

teff or quinoa and buckwheat present a higher nutritional value. Nevertheless, quinoa flour was higher in protein (13.5%), ash (2.43%) and fat (8.59%) and lower in carbohydrates (48.88%). Even with the high amount of lipids, quinoa flour has been widely used. This fact enhances the viability of using the fish flours, which have high fat content, where most of the lipid fraction in tilapia wastes includes essential fatty acids, largely omega-3 fatty acids, which have been demonstrated to reduce cardiovascular disease risk, decrease cholesterol levels, and act as cancer prevention agents in humans (Stevanato et al., 2010).

According to our findings, there were differences in proximate composition between the products. This suggests that the flours from tilapia wastes may be incorporated in ingredients generally used by the food industry, but each ingredient should be evaluated separately in several products by testing various concentrations. Moreover, instant soup exhibited low lipid levels and high protein and ash content, representing an easy-to-prepare and nutritious food for current consumers.

3.3 A_w and pH

Table A. 4 shows the A_w and pH in flours and instant soup from tilapia wastes. No difference ($P > 0.05$) was observed for the water activity values among all treatments.

There is a lack of information about water activity in flours and soups from fish, but our results can also be compared with flours from vegetal matrices. The products manufactured from tilapia wastes displayed lower A_w than two types of wheat flour ($A_w = 0.96$) studied by Skendi et al. (2010). Levels of A_w below 0.40 may accelerate the Maillard reaction (a common feature of intermediate moisture foods), and levels above 0.70 may lead to fungal development in flours (Shankar et al., 2010). According to our results, all products from tilapia displayed A_w values outside of these values (Table A. 4), suggesting a lower probability of fungal contamination and the Maillard reaction than conventional flours.

S3 had a lower pH than F1, F2, and F3, and no difference ($P > 0.05$) was observed in pH values among all flours. This parameter is relevant due its relation to water solubility indices, where authors have affirmed that a higher water solubility index (WSI) is reached in higher pH values (Sreerama et al., 2012 and Tivana et al., 2013). However, these findings are inconsistent with our results, which indicated an inverse relation between pH and WSI, most likely because the solubility parameter may be influenced by other factors such as temperature and water content (Yu et al., 2012).

3.4 Water absorption and solubility indices

S3 displayed higher ($P < 0.05$) WAI and WSI than F1, F2, and F3, whereas F1 displayed the lowest ($P < 0.05$) WAI and WSI (Table A. 4), most likely due to higher lipid content (Table A. 3) compared with the other treatments. Nonpolar molecules such as lipids have low solubility in water due to the high number of hydrophobic groups on their structure (Pohorille and Pratt, 2012). No difference ($P > 0.05$) was observed in WAI and WSI between F2 and F3.

In agreement with our results, Sreerama et al. (2012) reported that water solubility increased according to the increase in the water absorption index (Table A. 4). Nevertheless, the tilapia products displayed higher WAI and WSI than conventional flours (Andualem and Gessesse, 2013, Gujral et al., 2013, Skendi et al., 2010 and Sreerama et al., 2012). The high WAI of flours and instant soup from tilapia wastes can be attributed to the presence of higher amount of protein and lower moisture and water activity with respect to conventional flours (Hager et al., 2012 and Skendi et al., 2010).

According to Singh (2001), water absorption characteristics represent the ability of a product to associate with water under conditions where water is limiting. Moreover, a high amount of protein leads to an increase water-holding capacity due to the hydrophilic characteristics of proteins (Moroishi et al., 2013). Yu et al. (2012) reported that the highest water absorption index values were associated with the highest levels of protein addition in corn flours.

In relation to the water solubility index, instant soup displayed the highest WSI compared to flours this study and those found in literature (Hong and Yoo, 2012, Sharma and Gujral, 2010 and Sreerama et al., 2012). This can be attributed to the addition of ingredients into soup such as maltodextrin, starch and salt (NaCl), which can improve the water solubility index (Andualem and Gessesse, 2013 and Constanza et al., 2012).

On the other hand, flours from tilapia wastes displayed WSI values that were slightly different from conventional flours (Sharma and Gujral, 2010 and Sreerama et al., 2012), except for wheat flour (Hong and Yoo, 2012). This fact can be explained due to the high difference in the proximate composition between products from tilapia wastes (Table A. 3) and conventional flours (Hager et al., 2012, Kaur et al. 2013 and Skendi et al., 2010).

In agreement with our results, Sreerama et al. (2012) observed a major difference between flours from underutilized legumes and wheat flour, which has a long tradition of human consumption (Shewry, 2009). However, even with lower WSI values in chickpea, cowpea and horse gram flours compared with wheat flour, Sreerama et al. (2012) suggested that these flours might be used for producing composite flours as partial substitutes of ingredients in traditional food products. This fact reinforces the possible utilization of the tilapia flours as powder ingredients in the food industry.

3.5 Compression force, particle size distribution and particle size average

Table A. 4 shows the compression force in grams (g), particle size distribution (%) and PSA (μm). F1 had the highest ($P < 0.05$) compression force among the treatments. No difference ($P > 0.05$) was observed in this parameter among F2, F3 and S3.

Martin et al. (2007) affirmed that the texture influences certain physical properties such as the tempering requirements, flour particle size, water absorption and milling yield. Eduardo and Lannes (2007) described a relationship between particle size and compression force, where powders with a higher percentage of small particle size have a lower compression force. This relation can be observed in our study (Table A. 4).

On the other hand, this tendency may be changed when powders materials are used in association with other ingredients for elaboration of final product. In general, products manufactured from flours with a small particle size display higher compression force. This phenomenon has also been reported in other products. Barak et al. (2012) attributed this to an increase in water absorption capacity of the flour with finer particle size, which resulted in a dough stiffness that resulted in harder cookies. Petitot et al. (2010) observed a heterogeneous dough in pasta produced from legume flours (split pea and faba bean flour). In accordance with these authors, Mahasukhonthachat et al. (2010) affirmed that reduction in the particle size might expose larger surface areas and, at the same time, more polar groups with water binding sites to the surrounding water.

The relationship between particle size and water absorption was also observed in our study. As the diameter of flours and instant soup decreased, the WAI of these products increased substantially from 271.5 to 477.3 (Table A. 4).

A significant difference ($P < 0.05$) was found among all treatments in PSA and particle size distribution values (Table A. 4; Fig. A. 1). All flours (F1, F2 and F3) were

composed mostly of particles in the 500–1000 μm range (Fig. A. 1), being characterized by a higher amount of larger particles. However, F1 displayed a higher ($P < 0.05$) amount of larger particles (70% at 1000 μm), most likely due to the difference in the protein, lipid and moisture content with respect to F2, F3, and S3. Because flours with small particles size may negatively influence the texture proprieties of products, researchers suggest the utilization of flours with higher amounts of larger-sized particles (Barak et al., 2012 and Petitot et al., 2010). Barak et al. (2012) concluded that wheat flour with a particle size greater than 150 μm produced cookies with the best quality. When considering particle size, all flours of this study displayed a higher potential as replacements for flours widely used in sectors of the food industry.

S3 had mostly particles in the 250-500 μm range, displaying a lower amount of larger particles than F1, F2 and F3. According to Jinapong et al. (2008), agglomerated powder with particle sizes larger than 260 μm generates products with the best handling characteristics, instant preparation characteristics, and reconstitution properties.

Therefore, considering the utilization of flours without gluten described in literature and the nutritious potential of flours from tilapia wastes, this study suggests that such flours may be incorporated into several products, but the proper levels and sensorial parameters should be evaluated. In addition, instant soup is a semi-ready product with high potential for commercialization and consumption due to excellent nutritional and technological proprieties.

3.6 Instrumental color analysis

Table A. 4 shows the instrumental color parameters. F1 had lower L^* , a^* , and b^* values than F2, F3, and S3. F2 and F3 displayed higher redness, whereas S3 had higher lightness (L^*) compared with the other treatments. No difference ($P > 0.05$) was observed in b^* values among F2, F3, and S3. Instant soup demonstrated greater light color according to an analysis of instrumental color parameters and visual appearance made by authors this study, most likely due to the addition of ingredients usually used in soups (maltodextrin and modified starch). According to Hager et al. (2013), lighter coloration may strongly influence the consumer's choice. In this manner, this semi-ready product will display satisfactory sensory scores in terms of coloration.

There is a lack of data in relation to color parameters in fish flours. Furthermore, the purpose of this study was to examine the application of total or partial tilapia flours in

products already manufactured with other flours. Therefore, our results were compared to conventional flours generally already used in the food industry (botanical flours and non-gluten flours).

Flours produced in this study displayed lower lightness values and higher redness and yellowness (higher darkness) values than flours commonly used in the food industry (Brites et al., 2010 and Skendi et al., 2010), except for the b^* values of soybean flour (Kaur et al., 2013). Therefore, the flours from tilapia wastes, mainly head flour, could be incorporated in pre-cooked products because the cooking process promotes increased L^* and decreased a^* , resulting in lighter coloration, which positively influences consumer's acceptance (Hager et al., 2013). Another possibility would be partial replacement of the flours already used in the products with minor concentrations of tilapia flours. Aydin and Gocmen (2011) observed darkness in noodles supplemented with oat flour (10-40%), but no difference was observed in overall acceptance between noodles without oat flour and with 10% oat flour. Similar technological alternatives can be achieved by testing different concentrations of applied tilapia flours to improve nutritional value without changing the color of the final products.

3.7 Principal Component Analysis (PCA)

PCA explained 94.93% of variance (Fig. A. 2). The first component contributed 64.62% and separated the treatments into three groups (F1, F2 and F3, and S3) based mainly on the PSA, compression force, moisture, A_w , WAI, lipids and L^* values. The values of these parameters were inversely proportional in F1 and S3. The second component explained 30.31% of total variance and divided the treatments into two groups (F1 and S3 and F2 and F3) based mainly on the WSI, pH, protein, ash, carbohydrates, a^* and b^* values. The combination of principal components 1 and 2 resulted in separation into three groups (F1, F2 and F3, and S3). According to PC1 and PC2, F1 demonstrated higher PSA, compression force, A_w , pH, lipids, redness, and yellowness, as well as lower WAI, WSI, protein, and lightness. F2 and F3 had intermediate values of ash, pH, A_w , WAI, WSI, PSA, compression force, particle size distribution, and lightness but higher protein and moisture and lower carbohydrate levels, and S3 exhibited intermediate values of protein, moisture content, redness, yellowness, lower lipids, pH, A_w , PSA, particle size distribution, and compression force, as well as higher ash, carbohydrate, WAI, WSI, and lightness values.

Table A. 5 summarizes Pearson's correlation coefficients, which indicate the existence of a strong association between several attributes in relation to physical, chemical, and instrumental parameters.

F1 displayed higher ($P < 0.05$) lipid content and amount of larger particles compared with F2, F3, and S3. This fact may be explained by the positive correlation between PSA and lipid content. The greater water absorption and water solubility indices in the instant soup (S3) than in all the flours (F1, F2, and F3) might be partially attributed to the positive correlation between WAI and carbohydrates and WSI and carbohydrates. However, other factors contributed to high solubility in S3, such as lower lipid content and lower PSA.

The inverse association between WSI and lipid content might explain the lower ($P < 0.05$) WSI in F1, which displayed higher ($P < 0.05$) lipid content than other treatments. The pH values were inversely proportional to WAI and WSI, suggesting that pH otherwise influenced these indices in animal-origin flours.

It is important highlight that Pearson's correlation indicated that WAI and WSI and compression force and PSA were directly proportional. These associations strengthen the reports made by Sreerama et al. (2012) and Eduardo and Lannes (2007), respectively. However, the relationship between compression force and PSA becomes inversely proportional when other ingredients in addition to flours are added into the products. This most likely occurs due to the ability of smaller particles to absorb more water, increasing compression force as related by Barak et al. (2012), Mahasukhonthachat et al. (2010) and Petitot et al. (2010). This fact can be confirmed through the negative correlation between PSA and WAI.

3.8 Partial least square regression

Fig. A. 3 shows the relationship between the physical, chemical and instrumental color parameters that contributed to the compression test using partial least squares regression (PLSR). The PLSR model explained 94.7% of compression force (Y-axis) and 95.4% of the physical, chemical, and instrumental color parameters (X-axis), showing an accumulated Q^2 of 0.715. The physical, chemical, and instrumental color parameters were considered relevant when their respective variable important to the projection was greater than 0.7 (Wold et al., 2001).

WAI, WSI, instrumental color attributes (L^* , a^* , and b^*), and protein parameters were detrimental to compression force, whereas PSA, pH, water activity, and lipid content positively contributed to compression force. These results suggest that the proximate composition and other physical and chemical parameters may be influenced by the texture of powder products. The compression test results were higher when flours displayed lower WAI, WSI, protein content, L^* , a^* , and b^* values, as well as higher PSA, pH, A_w , and lipid content values.

According to Blanchard et al. (2012), the knowledge of flour functionalities can be achieved by studying the flour composition and property differences by using several types of flours. Therefore, currently, researchers have been investigating healthier alternatives to replace conventional flour sources, focusing on benefits to the health of consumers (Andualem and Gessesse, 2013, Gujral et al., 2013 and Park et al., 2013). Gujral et al. (2013) concluded that part of the wheat flour should be replaced with oats to take advantage of the nutraceutical potential of oats. Andualem and Gessesse (2013) affirmed that the defatted flour could be a useful replacement in viscous food formulations such as soups and baked goods due to high values of water absorption. Park et al. (2013) concluded that the turmeric could be utilized as a source of natural antioxidants to develop cakes as functional foods.

4. Conclusions

Flours and instant soup from tilapia wastes displayed great nutritious and technological potential. These products could be used as alternatives in the food industry for the development and introduction of new value-added foods to the market. The flours can be used as replacements in current food products made from conventional flour sources, producing a healthy impact on the consumers. Further investigation should be focused on the process optimization at the industrial scale. At the same time, sensorial evaluation must be performed to define the final product acceptance.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Carlos Chagas Filho Foundation for Research Support in the State of Rio de Janeiro – FAPERJ (Project E-26/111.196/2011 and E-26/103.003/2012) for financial support. M.L.G. Monteiro and E.T. Mársico would like to thank the National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (Project 551079/2011-8 and

309881/2012-9, respectively) for financial support. We thank the regional cooperative (COOPERCRAMMA, Rio de Janeiro, Brazil) for providing samples.

5. References

- Anduaem, B., & Gessesse, A. (2013). Effects of Salt (NaCl) Concentrations on the Functional Properties of Defatted Brebra (*Milletia ferruginea*) Seed. *Middle East Journal of Scientific Research*, 13(7), 889-897.
- AMSA - American Meat Science Association. (2012). *Meat color measurement guidelines*. Champaign, IL, USA.
- Anderson, R.A., Conway, H.F., Pfeifer, V.F., & Griffin Junior, E.L. (1969). Gelatinization of corn grits by roll- and extrusion-cooking. *Cereal Science Today*, 14(1), 4-12.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. (2000). *Official methods of analysis of AOAC International* (17th ed.). AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Aydin, E., & Gocmen, D. (2011). Cooking Quality and Sensorial Properties of Noodle Supplemented with Oat Flour. *Food Science and Biotechnology*, 20(2), 507-511.
- Barak, S., Mudgil, D., & Khatkar, B.S. (2012). Effect of flour particle size and damaged starch on the quality of cookies. *Journal of Food Science and Technology*. Doi: 10.1007/s13197-012-0627-x.
- Blanchard, C., Labouré, H., Verel, A., & Champion, D. (2012). Study of the impact of wheat flour type, flour particle size and protein content in a cake-like dough: Proton mobility and rheological properties assessment. *Journal of Cereal Science*, 56(3), 691–698.
- Boscolo, W.R., & Feiden, A. (2007). *Industrialização de tilápias*. Toledo, GFM Gráfica & Editora.
- Brazil. (2008). *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*, Adolfo Lutz Institute, São Paulo, Brazil.
- Brazil. (2012). Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura. Available from <http://www.mpa.gov.br/>, 2012.
- Brites, C., Trigo, M.J., Santos, C., Collar, C., & Rosell, C.M. (2010). Maize-Based Gluten-Free Bread: Influence of Processing Parameters on Sensory and Instrumental Quality. *Food and Bioprocess Technology*, 3(5), 707–715.
- Constanza, K.E., White, B.L., Davis, J.P., Sanders, T.H., & Dean, L.L. (2012). Value-Added Processing of Peanut Skins: Antioxidant Capacity, Total Phenolics, and Procyandin Content of Spray-Dried Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(43), 10776–10783.

- Conte-Júnior, C.A., Fernández, M., & Mano, S.B. (2008). Use of Carbon Dioxide to Control the Microbial Spoilage of Bullfrog (*Rana catesbeiana*) Meat. In A. Mendez-Vilas (Eds.), *Modern Multidisciplinary Applied Microbiology* (pp. 356-361). Weinheim, Germany.
- Eduardo, M.F., & Lannes, S.C.S. (2007). Use of texture analysis to determine compaction force of powders. *Journal of Food Engineering*, 80, 568–572.
- Fitzpatrick, J.J., & Ahrné, L. (2005). Food powder handling and processing: Industry problems, knowledge barriers and research opportunities. *Chemical Engineering and Processing*, 44(2), 209–214.
- 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.
- Gujral, H.S., Sharma, P., Gill, B.S., & Kaur, S. (2013). Effect of incorporating hydrothermal, kilned and defatted oats on antioxidant and chapatti making properties of wheat flour. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1400–1406.
- Hager, A.S., Wolter, A., Jacob, F., Zannini, E., & Arendt, E.K. (2012). Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *Journal of Cereal Science*, 56(2), 239-247.
- Hager, A.S., Czerny, M., Bez, J., Zannini, E., & Arendt, E.K. (2013). Starch properties, in vitro digestibility and sensory evaluation of fresh egg pasta produced from oat, teff and wheat flour. *Journal of Cereal Science*. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2013.03.004>.
- Hong, S.R., & Yoo, B. (2012). Effect of resistant starch (RS3) addition on rheological properties of wheat flour. *Starch/Stärke*, 64(7), 511–516.
- Jinapong, N., Suphantharika, M., & Jamnong, P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 84(2), 194–205.
- Kaur, M., Kaushal, P., & Sandhu, K.S. (2013). Studies on physicochemical and pasting properties of Taro (*Colocasia esculenta* L.) flour in comparison with a cereal, tuber and legume flour. *Journal of Food Science and Technology*, 50(1), 94-100.
- Krishnana, M., & Prabhasankara, P. (2012). Health Based Pasta: Redefining the Concept of the Next Generation Convenience Food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(1), 9-20.
- Mahasukhonthachat, K., Sopade, P.A., & Gidley, M.J. (2010). Kinetics of starch digestion in sorghum as affected by particle size. *Journal of Food Engineering*, 96(1), p. 18-28.

- Martin, J.M., Meyer, F.D., Morris, C.F., & Giroux, M.J. (2007). Pilot scale milling characteristics of transgenic isolines of a hard wheat overexpressing puroindolines. *Crop Science*, 47(2), 497-504.
- Monteiro, M.L.G., Mársico, E.T., Viriato, I.M., Souza, J.M.L., & Conte-Júnior, C.A. Preparation of Added Value Byproducts from the Waste Material of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Processing. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 3(5), 1-5.
- Monteiro, M.L.G., Mársico, E.T., Teixeira, C.E., Mano, S.B., Conte-Júnior, C.A., & Vital, H.C. (2012b). Validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados. *Ciência Rural*, 42(4), 737-743.
- Moroishi, H., Yoshida, C., & Murakami, Y. (2013). A free-standing, sheet-shaped, “hydrophobic” biomaterial containing polymeric micelles formed from poly(ethylene glycol)-poly(lactic acid) block copolymer for possible incorporation/release of “hydrophilic” compounds. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, 597–603.
- Ogbonnaya, C., & Ibrahim, M.S. (2009). Effects of drying methods on proximate compositions of catfish (*Clarias gariepinus*). *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(1), 114-116.
- Park, S.H., Lim, H.S., & Hwang, S.Y. (2013). Evaluation of antioxidant, rheological, physical and sensorial properties of wheat flour dough and cake containing turmeric powder. *Food Science and Technology International*, 18(5) 435–443.
- Peterman, M.A., & Phelps, R.P. (2012). Fillet Yields from Four Strains of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and a Red Variety. *Journal of Applied Aquaculture*, 24(4), 342-348.
- Petitot, M., Boyer, L., Minier, C., & Micard, V. (2010). Fortification of pasta with split pea and faba bean flours: Pasta processing and quality evaluation. *Food Research International*, 43, 634–641.
- Pohorille, A., & Pratt, L.R. (2012). Is Water the Universal Solvent for Life? *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 42(5), 405–409.
- Rutten, M.J.M., Bovenhuisb, H., & Komena, H. (2004). Modeling fillet traits based on body measurements in three Nile tilapia strains (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*, 231(1–4), 113–122.

- Sharma, P., & Gujral, H.S. (2010). Milling behavior of hulled barley and its thermal and pasting properties. *Journal of Food Engineering*, 97(3), 329–334.
- 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(4), 481–490.
- Shewry, P.R. (2009). Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60, 1537-1553.
- Singh, U. (2001). Functional properties of grain legume flours. *Journal of Food Science and Technology*, 38, 191-199.
- Skendi, A., Biliaderis, C.G., Papageorgiou, M., & Izydorczyk, M.S. (2010). Effects of two barley b-glucan isolates on wheat flour dough and bread properties. *Food Chemistry*, 119(3), 1159–1167.
- Sosulski, F.W. (1962). The centrifuge method for determining flour absorption in hard red spring wheats. *Cereal Chemistry*, 39, 344-350.
- Sreerama, Y.N., Sashikala, V.B., Pratape, V.M., & Singh, V. (2012). Nutrients and antinutrients in cowpea and horse gram flours in comparison to chickpea flour: Evaluation of their flour functionality. *Food Chemistry*, 131(2), 462-468.
- Stevanato, F.B, Cottica, S.M., Petenucci, M.E., Matsushita, M., Souza, N.E., & Visentainer, J.V. (2010). Evaluation of processing, preservation and chemical and fatty acid composition of Nile tilapia waste. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34, 373–383.
- Suliman, H.M.A., & James, G.K. (2011). A comparative studies on the chemical and physical attributes of wild farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Online Journal of Animal and Feed Research*, 1(6), 407-411.
- Tivana, L.D., Dejmek, P., & Bergensta, B. (2013). Effect of pH and soybean flour heat treatment on the texture and colour of fortified roasted shredded cassava roots (garri). *Starch/Starke*, 00, 1–9. Doi: 10.1002/star.201200136.
- Merrill, A.L., & Watt, B.K. (1973). *Composition of Foods* (Handbook 74, pp. 2-11). Washington, DC.
- Wold, S., Sjostrom, M., & Eriksson, L. (2001). PLS-Regression: A Basic Tool of Chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58, 109-130.

Yu, L., Ramaswamy, H.S., & Boye, J. (2012). Twin-screw Extrusion of Corn Flour and Soy Protein Isolate (SPI) Blends: A Response Surface Analysis. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 485–497.

Table A. 1. Formulation of instant soup produced from tilapia wastes (*O. niloticus*).

Ingredients	%
Head flour	3.0
Carcass flour	21.0
Modified starch	6.7
Salt	3.4
Maltodextrin	53.0
Onion powder	9.0
Garlic powder	3.9

Table A. 2. Processing yield of different products manufactured from tilapia wastes (*O. niloticus*).

Products	Weight (Kg)	Processing yield (%)
Whole fishes	25.280	-----
Fish fillets	7.100	28.09
Heads	4.230	16.73
Carcasses	7.280	28.80
Head pulp	2.750	65.01
Carcass pulp	7.250	99.59
Head flour	0.572	20.80
Carcass flour	2.080	28.69
Head and carcass flours	2.376	89.59
Instant soup	9.898	416.58

* Processing yield was calculated from weight of each wastes or final products multiplied by 100, and divided by their precursor product (Rutten et al., 2004). For example: Head weight (4.230 Kg) X 100/whole fish weight (25.280 Kg).

Table A. 3. Proximate composition of flours and instant soup produced from tilapia wastes (*O. niloticus*).

Composition (%)	Treatments			
	F1	F2	F3	S3
Proteins	38.52 ^b	49.22 ^a	48.00 ^a	46.44 ^a
Lipids	51.62 ^a	38.23 ^b	42.96 ^b	10.98 ^c
Ash	4.54 ^a	3.54 ^b	3.80 ^b	4.67 ^a
Moisture	3.02 ^b	7.84 ^a	7.27 ^a	6.37 ^a
Carbohydrates	2.34 ^c	1.1 ^b	0.85 ^b	21.84 ^a

F1 (head flour), F2 (carcass flour), F3 (head and carcass flours) and S3 (instant soup).

Different letters in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table A. 4. Physical and chemical analysis in flours and instant soup produced from tilapia wastes (*O. niloticus*).

Analysis	Treatments			
	F1	F2	F3	S3
Water activity	0.63 ^a	0.57 ^a	0.53 ^a	0.50 ^a
pH	6.12 ^a	6.08 ^a	6.07 ^a	5.71 ^b
WAI (%)	271.5 ^c	344.6 ^b	356.4 ^b	477.3 ^a
WSI (%)	6.55 ^c	8.85 ^b	9.65 ^b	52.20 ^a
Particle distribution (%) [*]	77.94 ^a	50.88 ^b	33.17 ^c	19.59 ^d
Particle size average (µm)	810.7 ^a	740.9 ^b	722.4 ^c	416.3 ^d
Compression force (g)	994.0 ^a	486.0 ^b	246.0 ^b	219.0 ^b
<i>L</i> [*]	23.70 ^c	34.32 ^b	32.74 ^b	70.22 ^a
<i>a</i> [*]	6.24 ^c	11.13 ^a	10.50 ^a	8.85 ^b
<i>b</i> [*]	4.13 ^b	17.15 ^a	14.74 ^a	14.45 ^a

F1 (head flour), F2 (carcass flour), F3 (head and carcass flours) and S3 (instant soup).

WAI = Water absorption index; WSI = Water solubility index.

L^{*} (Lightness), *a*^{*} (redness) and *b*^{*} (yellowness).

^{*}Percentage of particle distribution was measured on the 1mm sieve.

Different letters in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table A. 5. Pearson's correlation coefficients between physical and chemical parameters in flour and instant soup from tilapia wastes.

Variables	CF	PSA	WAI	WSI	Moisture	pH	Water activity	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	Lipids	Ash	Proteins	Carbohydrates
CF	1.00	0.97	-0.82	-0.55	-0.55	0.58	0.97	0.66	-0.73	-0.85	0.69	0.24	-0.85	-0.44
PSA	0.97*	1.00	-0.92	-0.73	-0.49	0.75	1.00	-0.81	-0.56	-0.75	0.82	0.01	-0.72	-0.64
WAI	-0.82*	-0.92*	1.00	0.93	0.53	-0.94	-0.92	0.97	0.33	0.62	-0.98	0.27	0.53	0.87
WSI	-0.55	-0.73	0.93*	1.00	0.33	-1.00	-0.74	0.99	-0.05	0.30	-0.96	0.60	0.18	0.99
Moisture	-0.55	-0.49	0.53	0.33	1.00	-0.39	-0.47	0.47	0.74	0.86	-0.56	-0.45	0.79	0.26
pH	0.58	0.75	-0.94*	-1.00*	-0.39	1.00	0.75	-0.99	-0.01	-0.35	0.98	-0.55	-0.23	-0.99
Water activity	0.97*	1.00*	-0.92*	-0.74	-0.47	0.75	1.00	-0.81	-0.54	-0.73	-0.82	-0.02	-0.70	-0.65
<i>L</i> *	-0.66	-0.81*	0.97*	0.99*	0.47	-0.99*	-0.81*	1.00	0.13	0.46	0.99	0.45	0.35	0.96
<i>a</i> *	-0.73	-0.56	0.33	-0.05	0.74	-0.01	-0.54	0.13	1.00	0.94	-0.21	-0.82	0.98	-0.16
<i>b</i> *	-0.85*	-0.75	0.62	0.30	0.86*	-0.35	-0.73	0.46	0.94*	1.00	-0.54	-0.59	0.99	0.19
Lipids	0.69	0.82*	-0.98*	-0.96*	-0.56	0.98*	0.82*	-0.99*	-0.21	-0.54	1.00	-0.37	-0.42	-0.93
Ash	0.24	0.01	0.27	0.60	-0.45	-0.55	-0.02	0.45	-0.82*	-0.59	-0.37	1.00	-0.67	0.69
Proteins	-0.85*	-0.72	0.53	0.18	0.79	-0.23	-0.70	0.35	0.98*	0.99*	-0.42	-0.67	1.00	0.06
Carbohydrates	-0.44	-0.64	0.87*	0.99*	0.26	-0.99*	-0.65	0.96*	-0.16	0.19	-0.93*	0.69	0.06	1.00

CF = Compression force, PSA = Particle size average, WAI = Water absorption index, WSI = Water solubility index.

*L** (Lightness), *a** (redness) and *b** (yellowness).

*Pearson's correlation coefficients ($r > 0.8$, $P < 0.05$).

Figure captions

Figure 1

Fig. A. 1. Particle size distribution of the flours and instant soup produced from tilapia waste (*O. niloticus*)

F1 (head flour), F2 (carcass flour), F3 (head and carcass flours) and S3 (instant soup).

Figure 2

Fig. A. 2. Physical and chemical data of flours and instant soup produced from waste tilapia (*O. niloticus*) in the plane defined by two principal components

F1 (head flour), F2 (carcass flour), F3 (head and carcass flours) and S3 (instant soup).

WAI = Water absorption index; WSI = Water solubility index; PSA = Particle size average

Figure 3

Fig. A. 3. Partial Least Square regression model for physical and chemical analysis in flours and instant soup produced from waste tilapia (*O. niloticus*)

X axis = physical, chemical and instrumental color parameters; Y axis = compression force

F1 (head flour), F2 (carcass flour), F3 (head and carcass flours) and S3 (instant soup).

WAI = Water absorption index; WSI = Water solubility index; PSA = Particle size average

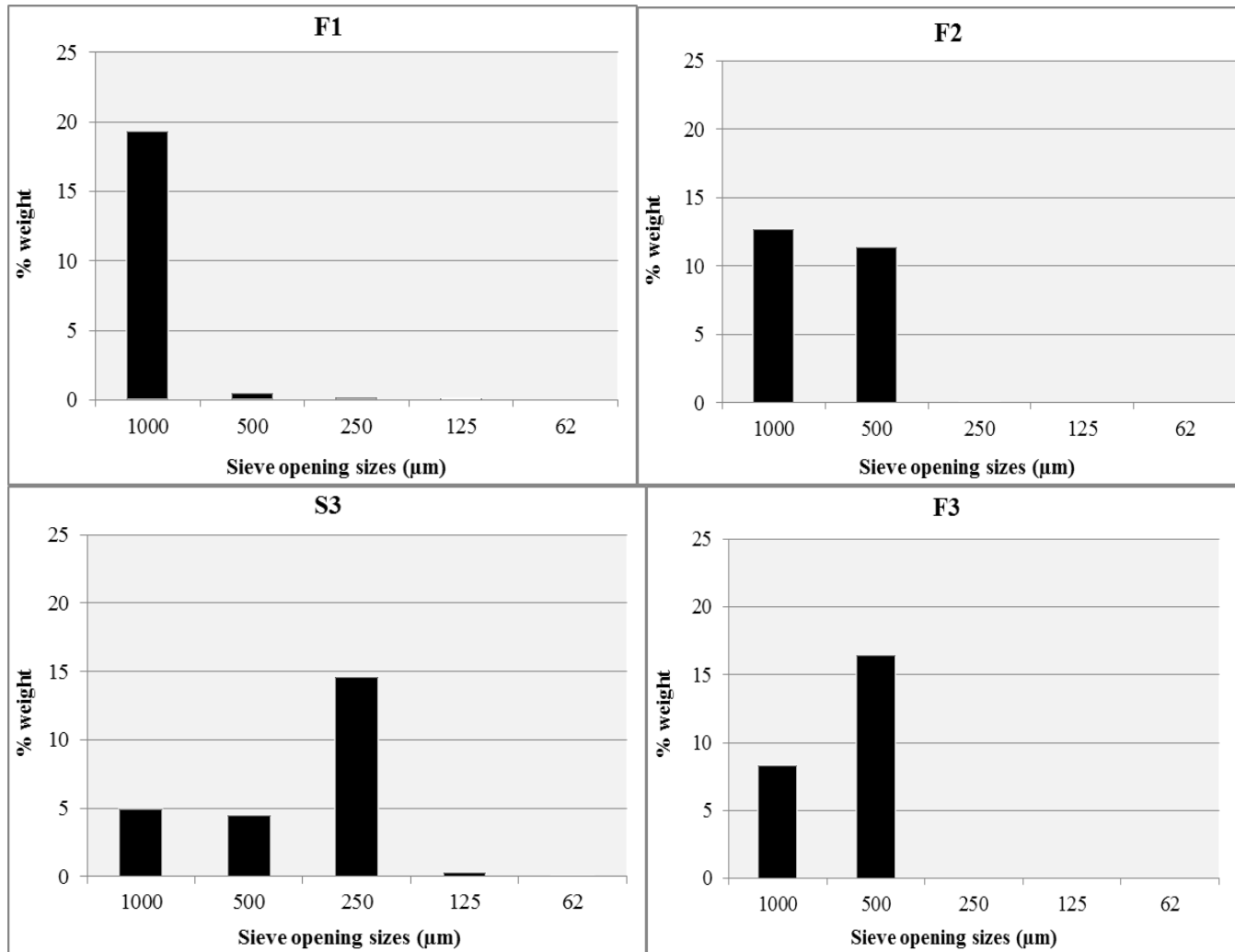


Fig. A. 1. Particle size distribution of the flours and instant soup produced from tilapia waste (*O. niloticus*)

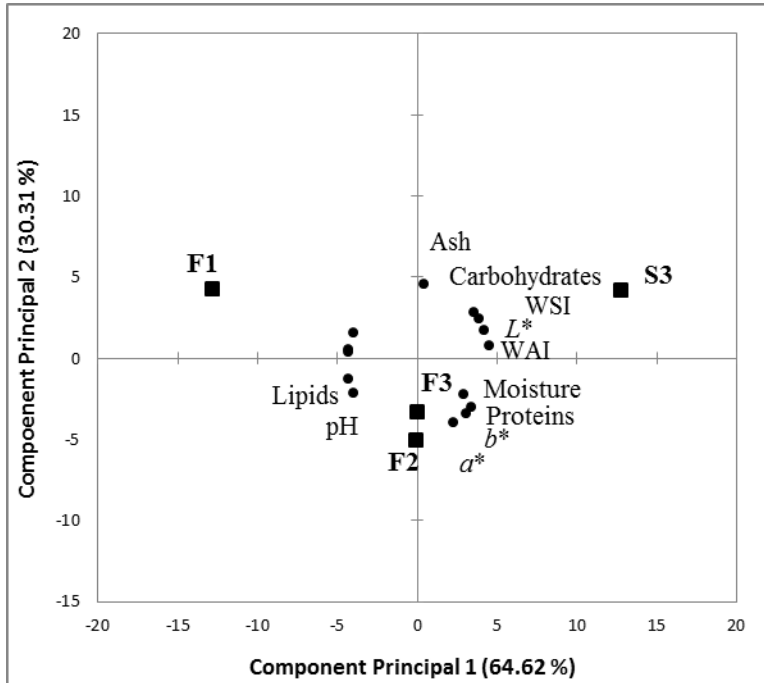


Fig. A. 2. Physical and chemical data of flours and instant soup produced from waste tilapia (*O. niloticus*) in the plane defined by two principal components

F1 (head flour), F2 (carcass flour), F3 (head and carcass flours) and S3 (instant soup).

WAI = Water absorption index; WSI = Water solubility index; PSA = Particle size average

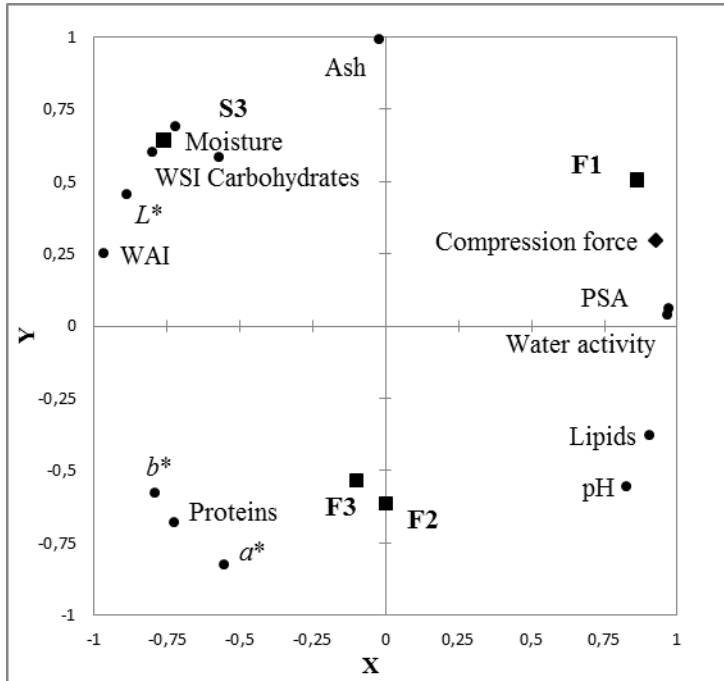


Fig. A. 3. Partial Least Square regression model for physical and chemical analysis in flours and instant soup produced from waste tilapia (*O. niloticus*)

X axis = physical, chemical and instrumental color parameters; Y axis = compression force

F1 (head flour), F2 (carcass flour), F3 (head and carcass flours) and S3 (instant soup).

WAI = Water absorption index; WSI = Water solubility index; PSA = Particle size average

3.3 ARTIGO 3: EFFECT OF TRANSGLUTAMINASE ON PHYSICAL, CHEMICAL, BACTERIOLOGICAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF A VALUE-ADDED TILAPIA STEAK PRODUCED FROM WASTES PROCESSING. Submitted to Food and Bioproducts Processing (Paper III)

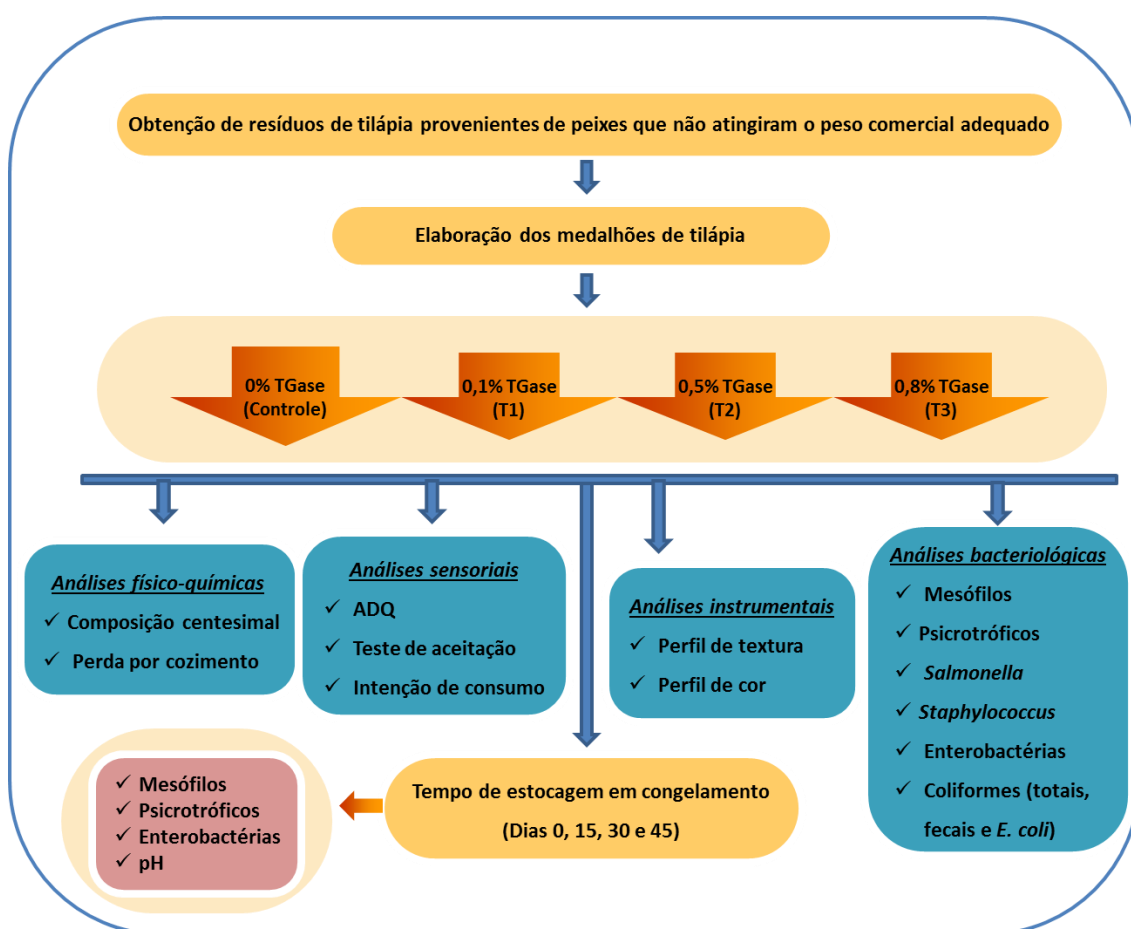


Figura 3. Desenho experimental delineado para desenvolvimento artigo 3.

Effect of transglutaminase on physical, chemical, bacteriological and sensory characteristics of a value-added tilapia steak produced from wastes processing

M.L.G. Monteiro^a, E.T. Mársico^a, C.A. Lázaro^b, A.C.V.C.S. Canto^a, B.R.C. Costa Lima^a, A.G. Cruz^c, C.A. Conte-Júnior^a

^a Department of Food Technology, Faculty of Veterinary Medicine, University Federal

Fluminense, Vital Brazil Filho 64, CEP: 24230-340, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil

^b College of Veterinary Medicine, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Circunvalación Cdra. 28 s/n, P.O. Box 03-5137, San Borja, Lima, Perú

^c Federal Institute of Education, Science and Technology of Rio de Janeiro, Rua Senador Furtado Maracanã, CEP: 20270-021 Rio de Janeiro, Brazil

* Corresponding author. Telephone number: + 55-021-2629-9545

e-mail address: marialuciaguerra@yahoo.com.br (M. L. G. Monteiro)

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the physical, chemical, instrumental colour and texture properties, as well as the sensory profiles, of restructured tilapia steaks prepared with the following different levels of microbial transglutaminase (MTG): CON (without MTG), T1 (0.1% MTG), T2 (0.5% MTG), and T3 (0.8% MTG). The bacterial content and pH changes were also evaluated during 90 days of frozen storage. Sodium polyphosphate (0.4%), onion powder (1.0%), garlic powder (2.5%), water (10.0%) and sodium chloride (1.5%) were added to non-commercial sized (small) tilapia fillets. The different levels of MTG did not affect ($P > 0.05$) the proximate composition of the restructured tilapia steaks or the bacterial growth during their frozen storage. MTG improved ($P < 0.05$) the cooking yield and several instrumental (hardness and chewiness) and sensory (salty taste, succulence and tenderness) attributes that strongly contributed to their overall acceptance. Therefore, a restructured tilapia steak manufactured with MTG is a potential valued-added product with high acceptability and a better purchase-intention than steaks prepared without MTG.

Keywords

Oreochromis niloticus; Freshwater fish; Tilapia waste; Restructured steaks; Microbial transglutaminase; Just-about-right scales

1. Introduction

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is the most farmed fish in Brazil with a nation-wide distribution. In 2010, approximately 155.450 tons of tilapia were produced, representing 39.4% of the freshwater fish that were farmed (MPA, 2012). Fillets are the primary product;

thus, most studies of tilapia have focused on this product (Cozzo-Siqueira and Oetterer, 2003, Monteiro et al., 2012 and Soccol et al., Biato, 2005), and consequently, the production of similarly sized animals is important to deliver a well-standardised product to consumers. However, the heterogeneity of the growth performance and rearing methods yield animals under the desired weight, resulting in irregularity in the lots and rejection by the consumer and causing economic loss to the industry (low-value cuts) (Vidotti and Gonçalves, 2006). These problems affect 12-14% of the Brazilian fish farms (Lima, 2008). Alternative uses of waste tilapia have been studied (Monteiro et al., 2012).

Restructured meat technology represents an alternative method to increase the profit from irregular fillets. This technology frequently uses several ingredients and additives (polyphosphates, salt, starch, protein isolate and enzymes) to improve the binding strength between the meat pieces and the functional properties of the restructured meat products (Moreno et al., 2008 and Ramírez et al., 2006).

Microbial transglutaminase (MTG) is an enzyme that can modify the rheological properties of proteins, improving the mechanical properties of food products (Flanagan et al., 2003 and Moreno et al., 2008). Currently, the effect of covalent cross-linking by this enzyme, particularly that from a microbial source, on the rheological properties of food proteins and product development have been studied by many researchers (Gonçalves and Passos, 2010, Sanh et al., 2011 and Suksomboon and Rawdkuen, 2010). The effect of MTG on the gel strength of fish meat varies with the species and the freshness, which is associated with the integrity, denaturation and degradation of myofibrillar proteins (Jiang et al., 2000). Therefore, more studies of the binding efficiency of MTG in products made with fish waste are necessary, particularly with Nile tilapia, which is the species that is widely cultivated worldwide.

In this context, the objective of this study was to evaluate the effect of different levels of MTG on the instrumental (colour and texture), physical and chemical parameters of restructured tilapia steak prepared using non-commercial sized fillets, as well as on the sensory profile and the bacteriological changes that occur during frozen storage.

2. Material and Methods

2.1 Tilapia samples

Six kg of tilapia fillets of a non-commercial size were obtained from a fishery farm in Rio de Janeiro, Brazil. Immediately after harvesting, the tilapias were eviscerated, washed and filleted. Fillets samples were placed in polyethylene bags, placed on ice (4°C) and transported to the laboratory. The period from harvest to arrival at the laboratory did not exceed two hours.

2.2 Preparation of the restructured tilapia product

The fillets were randomly divided into four equal groups (CON, T1, T2 and T3). The formulation comprised chilled water, sodium polyphosphate, sodium chloride, garlic powder and onion powder. In addition, MTG (Active WM, Ajinomoto Co. Inc., Kawasaki, Japan) was added in different concentrations according to the following groups: CON (0%), T1 (0.1%), T2 (0.5%) and T3 (0.8%) (Table 1). Each treatment was manually homogenised for 10 minutes to allow absorption the ingredients, then tube-casted using poly-vinyl chloride film (PVC) into 6-cm diameter cylinders. The end were twisted and sealed and several punctures were made using a syringe needle to release the entrapped air. During the entire processing period, the samples' temperature did not exceed 12°C. The cylinders were stored under refrigeration for cold binding at 4°C for 24 hours. After the binding stage, the PVC film was removed and the cylindrical-shaped samples were sliced into steaks of 1.0-cm high. Finally, the steaks were individually packed in polyethylene bags, sealed and frozen (-18°C) until further analysis. The experiment was repeated four times (n = 4).

2.3 Proximate analysis

The proximate compositions (moisture, lipid, protein and ash content) were determined according to the AOAC recommendations (AOAC, 2000).

2.4 Bacteriological analysis

Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*, total aerobic mesophilic (TAMB) and psychrotrophic bacterial (TAPB) counts, and *Salmonella* spp. contents were determined as described by APHA (2001). Analyses of the total coliforms, thermotolerant coliforms and *Escherichia coli* were performed in accordance with Merck's methodology (Merck, 2000). The serial dilutions were prepared according to Conte-Júnior et al. (2010). The described

bacterial analyses were performed only on the first day of storage to determine the initial bacterial loads of the raw tilapia fillets and the treatments (CON, T1, T2 and T3).

2.5 Frozen storage monitoring

Enterobacteriaceae, TAMB and TAPB counts (APHA, 2001) were performed at 0, 15, 30 and 45 days during frozen storage. In addition, the pH value of a homogenised solution of 10 g of muscle sample in 90 mL of distilled water were measured on each of these days using a digital pH meter (Digimed® DM-22) equipped with a DME-R12 electrode (Digimed®) (Conte-Júnior et al., 2008).

2.6 Cooking yield

The cooking yield was calculated from the difference between the weights of the raw and cooked samples after they were tempered to 25°C, and expressed as a percentage of the initial weight (Boles and Swan, 1996). The cooked samples were grilled until the temperature at the geometric centre reached 75°C.

2.7 Instrumental colour analysis

Colour was measured using a CR 400 colorimeter (Konica Minolta Inc., Osaka, Japan) and expressed as the L^* (darkness), a^* (redness), and b^* (yellowness) values. Raw steaks were thawed at 4°C for 5 hours and maintained for one hour at 25°C to allow colour development and then, colour measurements were taken from both planar surfaces. The cooked colour was obtained by bisecting the cooked steaks to expose the inner surface, followed by 1 hour tempering at 25°C and then, colour readings were taken from both inner planar surfaces (Monteiro et al., 2013).

2.8 Instrumental texture analysis

Texture profile analysis (TPA) of the raw and cooked tilapia restructured steaks was performed using a model TA XT plus texture analyser (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK) and the Texture Expert for Windows programme (Stable Micro Systems), and expressed as hardness, springiness, cohesiveness, chewiness and resistance values (Canto et al., 2012). The samples were thawed as described previously for the colour analysis. The samples were compressed to 50% of their original height using a 75-mm diameter cylindrical metal probe

(P/75). Two compression cycles (pre-test speed: 10 mm/s; test speed: 5 mm/s and post-test speed: 10 mm/s; time between compressions: 5 s) were performed.

2.9 Sensory analysis

2.9.1 *Quantitative descriptive analysis*

The sensory profile of the raw and cooked products were obtained from eight trained panellists, including three men and five women aged between 24 and 31, using quantitative descriptive analysis (QDA) (Stone et al., 1974). The panellists were students in the graduate programme of the Department of Food Technology of the Universidade Federal Fluminense. The recruitment was conducted by individual oral interviews. During training, the panellists defined the attributes (colour, flavour, taste and texture) with their respective descriptors, references and perception intensities (Table 2) through an open discussion among the panel members that was moderated by a leader.

The colour was evaluated in raw samples previously thawed as described for the instrumental colour and texture analyses. Further attributes were evaluated after cooking the samples as described for the cooking yield analysis. After identification of the attributes and references, training as to the descriptive terms was performed. Samples were cut into four pieces and presented to trained panel at 25°C on disposable white plastic plates. All of the samples were evaluated under laboratory conditions and a total of 9 sessions were conducted. A cream cracker without salt and mineral water at 25°C were offered to cleanse the palate between samples.

For the final evaluation, the trained panellists analysed three replicates of the samples in individual booths. The samples were served in a monadic way, encoded with a three-number identifier and presented in a balanced order using a 9-cm linear non-structured quantitative perception intensity scale.

2.9.2 *Acceptance and consumers testing*

The sensory analyses were performed in individual booths by 60 untrained panellists (22 men and 38 women, aged between 19 and 51). The samples were evaluated after being cooked as described before. The restructured tilapia steaks were randomly presented on white plastic plates at 25°C. The appearance, cooked colour, flavour, odour,

texture, succulence and overall acceptance were evaluated according to a nine-point hedonic scale (1 - disliked extremely and 9 - liked extremely) (Dornelles et al., 2009 and Stone and Sidel, 1998). Additionally, the salty taste, spicy taste and firmness were evaluated using a nine-point Just-About-Right (JAR) scale (1 = extremely too little salty/spicy taste or firm; 5 = just about right; 9 = extremely too much salty/spicy taste or firm) according to Cervantes et al. (2010).

2.10 Statistical analysis

A one-way ANOVA was performed to compare the mean values for each parameter between the treatments. The data were analysed using GraphPad Prism®, (GraphPad Software, San Diego, California, USA) with a 95% confidence level ($P < 0.05$). Principal components analysis (PCA) was performed to correlate the sensory attributes (QDA), cooking yield, and the measured colour and texture values. Partial least square regression (PLS) was used to explore the relationships between the sensory descriptive data (QDA), instrumental data, overall acceptance and cooking yields. In addition, penalty analysis was used to analyse the JAR data to identify possible alternatives for product improvement. Pearson's correlation at a 5% significance level ($P < 0.05$) was performed to correlate the instrumental and sensory data (colour and texture parameters). The PCA, PLS, penalty analysis and Pearson's correlation were performed using XLSTAT version 2012.6.08 (Addinsoft, Paris, France) software.

3 Results and Discussion

3.1 Proximate composition

Table 3 shows the proximate composition of the restructured tilapia steaks. No difference ($P > 0.05$) was observed in the protein, lipid, moisture or mineral contents of the CON and MTG treatments (T1, T2 and T3). Our results are in agreement with Chin and Chung (2003), who did not report a difference ($P < 0.05$) in proximate compositions of restructured meat products (sausages) manufactured without MTG or with 0.1, 0.2 and 0.3% MTG. Uran et al. (2013) studied different levels of MTG (0.5 and 1.0%) in chicken breast patties. They observed that MTG treatment did not affect the ash, lipid and protein contents when compared to those of the control samples, but the moisture content of the 1% enzyme-treated sample was significantly ($P < 0.05$) lower than that of the control and the 0.5%

transglutaminase-treated samples. The addition of MTG induced inter-connections in the gel matrix, thereby enhancing the water-holding capacity of the gel (Han et al., 2009), which is negatively correlated with the moisture content (Qiao et al., 2001). Based on our results and the findings in the literature, the use of microbial transglutaminase at up to 0.8% does not affect the proximate composition.

3.2 Bacteriological analysis

Salmonella spp. and *Staphylococcus aureus* were not detected in any of the samples. The total coliform, thermotolerant coliform, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, TAMB, and TAPB loads were within the official limits (ICMSF, 1986) for raw materials and in all of the treatments, indicating proper bacterial contents in the products. CON, T1, T2 and T3 contained 3.0 Log CFU/g of TAMB and no *Enterobacteriaceae* were observed. All of the treatments (CON, T1, T2 and T3) had TAPB counts below 3 Log CFU/g. This suggests that, although the conditions were controlled during the addition of the ingredients and the manufacture of the products, these conditions may have increased the psychrotrophic bacterial count in the restructured tilapia steaks; however, the bacteriological quality of this product was not compromised.

3.3 Frozen storage monitoring

The TAMB (Fig. 1a) and TAPB (Fig. 1b) counts remained constant ($P > 0.05$) during the frozen storage, suggesting that MTG did not affect the growth rate of these microorganisms. Although all of the samples had similar counts (between 3.0-3.5 and 2.0-2.5 Log CFU/g for TAMB and TAPB, respectively) at the end of experiment, the bacterial quality of the samples was not compromised. Fig. 1c shows that there was minimal growth (less than 1 Log CFU/g) of *Enterobacteriaceae* until the 30th day of storage. The *Enterobacteriaceae* count increased ($P < 0.05$) at 45 days, reaching between 2.0 to 3.0 Log CFU/g in all of the treatments ($P < 0.05$). The bacterial counts in all of the treatments were below the limits established by the International Commission on Microbiological Specification for Foods (7.0 Log CFU/g) (ICMSF, 1986).

The pH values (Fig. 1d) of each treatment did not significantly change ($P > 0.05$) during the storage period. However, T1, T2 and T3 had a higher ($P < 0.05$) pH than did CON,

independent of the storage time. This result could be related to the mechanism of action of MTG on the water content of foods. This enzyme improves the water-holding capacity of proteins either by increasing their ability to swell and bind water or by inducing the formation of a gel (Ionescu et al., 2008). Moreover, in the absence of amine substrates, transglutaminase is capable of catalysing the deamination of glutamine residues, where water is used as a nucleophile and ammonia is liberated, resulting in alkalisation of the product (Macedo et al., 2010). In agreement with our results, Han et al. (2009) suggested that MTG could have slightly increased the pH values of pork myofibrillar proteins.

3.4 Cooking yield

The restructured tilapia steak lacking MTG (CON) provided a lower ($P < 0.05$) cooking yield (78.24) than did the other treatments (Table 3). T3 (high-enzyme content - 0.8% MTG) had the highest ($P < 0.05$) cooking yield (86.21%). MTG induced strong interactions among the protein molecules, improving the water-holding capacity and consequently, increasing the cooking yields (Suksomboon and Rawdkuen, 2010). Our findings were consistent with the results of other authors, such as those of Tseng et al. (2000) in a study of chicken meat-balls, Pietrasik and Li-Chan (2002), who evaluated pork-batter gels, Han et al. (2009), who studied pork myofibrillar proteins and Suksomboon and Rawdkuen (2010), who evaluated ostrich meat-balls. In accordance with the results of this study, Puolanne and Peltonen (2013) reported that a higher water-holding capacity can be obtained by increasing the pH value in meat products.

3.5 Texture measurements

3.5.1 Raw restructured tilapia steaks

Table 3 shows the texture attributes of the raw steaks. The presence of MTG increased the hardness ($P < 0.05$) while decreasing the springiness and chewiness. T3 exhibited the lowest ($P < 0.5$) springiness among the treatments. Cohesiveness was not affected by the MTG content ($P > 0.05$). In agreement with our results, Uresti et al. (2003) observed lower chewiness when 0.1% and 0.3% MTG were added and higher springiness when 0.3% MTG was added to fish gels. Ramírez et al. (2006) reported that the hardness was increased and cohesiveness was not affected when 0.3% MTG was added to restructured fish products. Moreno et al. (2010) observed that restructured trout mince with 1.0% MTG

had a greater hardness than did products lacking MTG. In contrast, adding MTG (to 0.1 and 0.3%) decreased the hardness of fish gels (Uresti et al., 2003), 0.3% MTG had no effect on the springiness of restructured fish products (Ramírez et al., 2006) and 1.0% MTG increased the cohesiveness of restructured trout mince (Moreno et al., 2010).

The increased hardness observed in the restructured tilapia steaks containing MTG can be attributed to the main function of MTG as a promoter of bond strengthening between the proteins in products (Moreno et al., 2010 and Ramírez et al., 2006). Small quantities of MTG (0.1%) are sufficient to improve the cohesion between meat pieces (Heinz and Hautzinger, 2007). Moreno et al. (2010) concluded that a concentration of 0.5% MTG was sufficient to obtain good mechanical properties in products that were restructured from raw hake muscle.

3.5.2 Cooked restructured tilapia steaks

After cooking, the T1, T2 and T3 steaks exhibited lower ($P < 0.05$) hardness and chewiness than did the CON steak (Table 3). This result could be linked to the increased cooking yield caused by adding MTG. According to Sen (2005), one of the important factors of the eating quality of meat is the texture, which is governed by its water content. No differences ($P > 0.05$) in the springiness, cohesiveness and resistance of the treatments (CON, T1, T2 and T3) were observed. This study suggests that MTG (up to 0.8%) could improve the mechanical properties of restructured tilapia steaks even with a low salt level (1.5%).

Although MTG activity occurs independent of the presence of salts and protein isolates, these ingredients are commonly used to increase the protein concentration, thereby improving the activity of MTG (Jarmoluk and Pietrasik, 2003). Ramírez et al. (2000) reported differences in myosin aggregation depending on the NaCl concentration and that myofibrillar proteins require at least 2.0% salt for optimal solubilisation. Ham-like products manufactured using restructured carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) obtained using a massaging technique (Ramírez et al., 2002) displayed better mechanical properties when solubilised with 2.0% salt than when solubilised with 1.0% salt. Nevertheless, the addition of MTG with subsequent controlled heating considerably improved the textural properties of fish mince, however several matrices and applied conditions have been studied, indicating

that MTG enzymes exhibit a fish species-specific activity and temperature optima, which may be related to the temperature of the fish habitat and the extent of purity of the enzyme (Binsi and Shamasundar, 2012).

3.6 Instrumental colour

3.6.1 Raw restructured tilapia steaks

No differences ($P > 0.05$) in the L^* , a^* and b^* parameters were observed among the treatments (CON, T1, T2 and T3). In accordance with our results, Uresti et al. (2003), Chin and Chung (2003), and Uran et al. (2013) reported no differences ($P > 0.05$) in the colour parameters of fish gels, restructured meat and chicken breast patties treated with different levels of MTG (from 0.5% to 1.0%), respectively. Assessing the parameters used in this study, Moreno et al. (2008) reported that to prevent changes in the meat colour, the enzyme must react at approximately 5°C for up to 48 h. These conditions are similar to those used in our study.

3.6.2 Cooked restructured tilapia steaks

Table 3 shows the colour attributes of the cooked steaks. There was no difference in the lightness values of the MTG treatments and the CON treatment ($P > 0.05$). T1 had greater ($P < 0.05$) a^* and b^* values when compared to CON. In agreement with our results, Cofrades et al. (2011) reported that the cooking process decreases the redness and increases the lightness and yellowness, resulting in a whiter coloration in restructured poultry. Although some differences in the measured colour values of the treatments were observed, our findings showed that the addition of MTG maintained the white colour of tilapia meat when compared to that of the CON. Additionally, this colouration is one of the most important visual aspects of this product and is preferred by consumers (Medri et al., 2009). Therefore, the results indicate the high potential of applying these MTG concentrations in restructured tilapia steaks.

3.7 Quantitative descriptive analysis (QDA)

T1 had a lower ($P < 0.05$) tilapia flavour and taste than did the other treatments (Table 4). The salty taste and succulence were increased by MTG, regardless of the level. T1, T2 and T3 exhibited a higher ($P < 0.05$) tenderness and lower ($P < 0.05$) cohesiveness than

did the treatment lacking MTG. The treatments did not present differences ($P > 0.05$) in the raw colour, cooked colour or overall texture. QDA is of great importance in food product development because it is performed with trained panellists (Resurreccion, 2003). In our study, a salty taste, succulence and tenderness were considered to be relevant sensory traits for the development of restructured tilapia steaks. Han et al. (2009) suggested that MTG may increase the water-holding capacity of proteins, improving textural attributes related to water retention, such as succulence and tenderness. Dimitrakopoulou et al. (2005) reported that MTG generally does not negatively affect the firmness, succulence, colour, aroma, taste or saltiness, while improving the consistency and overall acceptability of restructured pork shoulder. The findings of this study are in accordance with those of Moreno et al. (2010), who observed better succulence in samples containing 1.5% NaCl and 1.0% MTG, compared to the other treatments (0.5-4.0% NaCl and 0.5-1.0% MTG) studied.

3.8 Principal component analysis

Principal component analysis (PCA) explained 84.25% of the data variance (Fig. 2). The first component contributed 48.07% of that variance and separated the treatments into two groups (CON and T1; T2 and T3) based on the QDA attributes (overall texture, cohesiveness, tenderness and raw colour) and the measured textural parameters of the cooked steaks (hardness, chewiness and resistance). T2 and T3 showed higher tenderness, but lower cohesiveness, cooked hardness and cooked chewiness than did the other treatments. Additionally, the consumers considered the steaks containing high levels of MTG (T2 and T3) to more tender and succulent, most likely because they provided a higher cooking yield. The second component explained 36.18% of the data variance. This component divided the treatments into two groups (CON and T3; T1 and T2) based on other QDA attributes (tilapia taste, tilapia flavour and salty taste), several measured colour parameters (cooked a^* and cooked b^*) and the cooked cohesiveness. T1 and T2 had lower values of tilapia taste, tilapia flavour and cooked cohesiveness but a higher cooked b^* value than the other treatments. Additionally, they received an intermediate score for the salty taste. The combination of principal components 1 and 2 arranged the treatments into the three following groups: CON, T1 and T2 plus T3. The CON steaks were characterised by their texture parameters, e.g., a higher cooked hardness and cooked chewiness, but a lower tenderness and cooking yield. T1 steaks were described by the lower raw L^* value, raw b^*

value, tilapia flavour and tilapia taste compared to the other treatments. T2 was described mainly by a greater raw colour (QDA) and textural attributes, such as the raw hardness, raw cohesiveness, raw resistance and cooked resistance. The MTG treatments (T1, T2 and T3) were categorised by similar salty taste, tenderness and succulence values, with less cohesiveness than the control samples had (CON). Additionally, the salty taste, tenderness, succulence and cohesiveness were perceived by the consumers in the QDA and these parameters were highly correlated with both principal components, indicating that these were the relevant parameters for differentiating the treatments.

The Pearson's correlation coefficients indicated a strong association among the cooking yield, and the textural and sensory attributes. A positive correlation ($P < 0.05$) was observed between the sensory cooked colour and cooked L^* value ($r = 0.95$), the sensory tilapia taste and sensory tilapia flavour ($r = 0.98$), the sensory tilapia taste and the cooked instrumental cohesiveness ($r = 0.83$), the sensory salty taste and cooked instrumental cohesiveness ($r = 0.84$), the sensory tenderness and cooked instrumental resistance ($r = 0.98$), the sensory overall texture and cooked instrumental hardness ($r = 0.98$), the sensory overall texture and cooked instrumental chewiness ($r = 0.92$), the raw L^* and raw b^* values ($r = 0.98$), the cooked a^* and cooked b^* values ($r = 0.93$), the raw instrumental hardness and raw instrumental chewiness ($r = 0.83$), the raw instrumental hardness and raw instrumental resistance ($r = 0.82$), the raw instrumental cohesiveness and raw instrumental resistance ($r = 0.86$), the cooked instrumental hardness and cooked instrumental chewiness ($r = 0.81$), the cooking yield and sensory tenderness ($r = 0.83$), the cooking yield and sensory succulence ($r = 0.91$), the cooking yield and sensory salty taste ($r = 0.91$), and the sensory salty taste and sensory succulence ($r = 0.90$). These results explain the greater tenderness and succulence of the MTG-treatments, which provided a higher cooking yield when compared to the CON treatment as well as a higher salty taste, which were highly correlated to succulence. According to Desmond (2006), increasing the water-holding capacity of meat increases the cooking yield, thereby increasing the tenderness and succulence of the meat product. Moreover, this study indicates a possible relation between the salty taste and the cooking yield, suggesting that adding transglutaminase as well as salt may improve the water-holding capacity and the perceived saltiness, which positively contribute to the overall acceptance (Monteiro et al., 2013).

In contrast, negative correlations were found for several other parameters, including the sensory raw colour and raw L^* value ($r = -0.81$), the sensory cooked colour and cooking yield ($r = -0.83$), the sensory tenderness and cooked instrumental chewiness ($r = -0.92$), the sensory succulence and sensory cooked colour ($r = -0.99$), the sensory cohesiveness and cooked instrumental resistance ($r = -0.87$), the sensory cohesiveness and cooking yield ($r = -0.93$), the sensory overall texture and cooked instrumental resistance ($r = -0.82$), the cooked L^* value and cooking yield ($r = -0.92$), the raw instrumental springiness and raw instrumental hardness ($r = -0.83$), the raw instrumental springiness and raw instrumental chewiness ($r = -1.00$), the raw instrumental springiness and raw instrumental resistance ($r = -0.80$), the cooked instrumental hardness and cooked instrumental springiness ($r = -0.86$), the cooked instrumental chewiness and cooked instrumental resistance ($r = -0.96$), the sensory cohesiveness and sensory tenderness ($r = -0.95$), and the sensory cohesiveness and sensory succulence ($r = -0.91$). Cohesiveness is determined by the amount that a product deforms rather than ruptures when forces are applied (Civille, 2011). The negative correlation among the sensory attributes of texture (cohesiveness, tenderness and succulence) found in this study, suggests an inverse relationship where as higher succulence and tenderness, lower force will be necessary to deform the product and consequently, lower is the cohesiveness.

3.9 Consumers' sensory testing

3.9.1 Hedonic scale testing

Table 4 shows the consumers attributes and their overall acceptance of the restructured tilapia steaks. All of the treatments received high scores (above 7.0) for the attributes evaluated, except the control samples in relation to its flavour, taste and succulence, and T1 with respect to its flavour. No difference ($P > 0.05$) was observed in the appearance, cooked colour, flavour, taste and texture attributes among all of the treatments, indicating that untrained panelists could not differentiate between the control restructured tilapia steaks and those containing MTG based on these attributes. Additionally, T1, T2 and T3 received higher succulence and overall acceptance scores than the control, regardless of the MTG level. However, based on these attributes, no difference ($P > 0.05$) was observed between CON and T1, whereas T2 and T3 received the highest ($P < 0.05$)

succulence and overall acceptance scores when compared to the other treatments. This fact most likely occurred due their being less hard and chewy as well as their higher cooking yields and tenderness values in the QDA contributing to better acceptability of the restructured tilapia steaks manufactured with higher levels of MTG. CON exhibited a higher sensory cohesiveness than did the other treatments, and this attribute was negatively correlated to sensory tenderness ($r = -0.95$) and sensory succulence ($r = -0.91$). This result may have been determinant in the lower acceptability of the CON steaks. In general, tenderness and succulence of muscle foods strongly influences and drives consumer's perceptions of acceptability, being considered the major factors that determine the eating quality of meat (Brewer and Novakofski, 2008).

The consumer test revealed that 88%, 90% and 88% of the consumers would purchase T1, T2 and T3 steaks, respectively. Similarly, CON would be bought by 76% of the consumers. These results suggest that the addition of MTG improved the purchase-intention of the restructured tilapia steaks and some of their sensory proprieties (succulence, salty taste and tenderness) that were essential for product acceptability by the consumer. The MTG enzyme can be used to improve the mechanical, functional and sensorial properties appropriate for commercialisation (Ramírez et al., 2007).

Our results showed that MTG can improve the acceptability of restructured tilapia steaks prepared using sub-ideal weight tilapia, which could be an excellent alternative for the fish industry. In agreement with the findings of this study, Gonçalves and Passos (2010) observed that a restructured fish product of white croacker containing MTG was approved with respect to its appearance, flavour, taste and texture attributes. Mahmood and Sebo (2009) observed better results in some attributes as colour, texture, flavour and consistency of cheese with 0.6% of MTG when compared with control samples.

3.9.2 Just-About-Right (JAR) Profile

T1, T2 and T3 had a salty taste and a spicy taste that increased with the increase of the MTG levels (Table 4). Despite this fact, these attributes were almost ideal in all of the treatments (JAR = 5.05 to 5.60, and 4.87 to 5.55, respectively). The firmness values were close to ideal on the nine-point scale (JAR = 5.02 to 5.38) and no difference ($P > 0.05$) in this attribute was observed between any of the treatments. This result suggests that the

consumers were unable to differentiate the restructured tilapia steaks manufactured with different MTG levels by their texture. Moreno et al. (2010) affirmed that the MTG content (0.5 and 1.0%) did not affect the sensorial firmness of cooked samples. They concluded that cooking the preparation at 70–80°C was sufficient to establish enough bonds to maintain the firmness of products restructured from raw hake muscle, particularly when the samples contained 1.5% NaCl or more.

3.9.3 Partial least squares regression

Fig. 3 shows the relationships among the overall acceptance, QDA and instrumental parameters that contributed to the overall acceptance obtained using partial least squares regression (PLSR). The PLSR model explained 100.0% of the consumer acceptance (Y-axis) and 84.1% of the trained panellists' sensory scores and the instrumental parameters (X-axis), yielding an accumulated Q^2 of 0.980. The QDA and instrumental attributes were considered relevant when their respective variable importance in the projection was greater than 1.0 (Wold et al., 2001).

Several sensory attributes (cooked colour, cohesiveness and overall texture), one of the instrumental texture parameters (cooked hardness), and several of the measured colour parameters (raw b^* , raw L^* and cooked L^*) were detrimental to the overall acceptance, whereas other sensory attributes (salty taste, tenderness and succulence), several of the texture parameters of the cooked steaks (cohesiveness and springiness) and the cooking yield positively contributed to the overall acceptance (Fig. 4). In relation to the last parameters, T1 exhibited a lower cooked cohesiveness and cooked springiness than did the CON, T2 or T3, but this difference was not perceived by the consumers. In contrast, the consumers considered T1, T2 and T3 to be more salty, tender and succulent, most likely because they exhibited a higher cooking yield. These data suggest that the addition of the microbial MTG improved these sensory attributes; therefore, the MTG enzyme led to a greater overall acceptance of the restructured tilapia steaks. In agreement with our results, Uran et al. (2013) used 0.5 and 1.0% MTG in chicken breast patties and concluded that these enzyme concentrations significantly increased the cooking yield and improved their textural properties.

3.9.4 Penalty analysis

Penalty analysis is applied to sensory data to identify the parameters (for each treatment) that can be improved to increase consumer acceptance, by combining the data from the JAR profile and the consumers' hedonic testing. The major detrimental attributes were those with > 0.5 penalty score and > 20% occurrence. The firmness value penalised the overall acceptance of the T2 tilapia steaks by 33% of the consumers. This result could be related to the raw and cooked T2-steaks exhibiting the highest resistance in the instrumental texture analysis. The consumers described these steaks as slightly more firm than ideal (JAR = 5.37). T3 was penalised for a too spicy taste by 33% of the consumers. Moreover, the consumers concluded that these steaks were slightly spicier than ideal (JAR = 5.55). Apparently, the high MTG level of this treatment contributed to the perception of enhanced spiciness in the T3 steaks. However, the consumers were not able to differentiate the treatments based on their texture and taste attributes; T2 and T3 had a greater overall acceptance (7.48 and 7.52, respectively) than did the other treatments. A salty taste did not penalise the overall acceptance of any of the treatments (CON, T1, T2 and T3), suggesting that this attribute positively contributed to the steaks acceptability.

4. Conclusions

The utilisation of MTG in the development of restructured products is a potential tool for the food industry. This enzyme maintained the proximal composition and nutritional characteristics and improved the sensorial and mechanical attributes of the product. These advantages can be exploited by employing a low concentration of MTG (0.5%) in the product formulation. The restructured tilapia steak prepared from fillets of sub-ideal weights is a potential valued-added product with high acceptability and better purchase intention than steaks prepared without MTG.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Carlos Chagas Filho Foundation for Research Support in the State of Rio de Janeiro – FAPERJ (projects E-26/111.196/2011 and E-26/103.003/2012) for financial support. We thank the regional cooperative (COOPERCAMMA) for providing the samples and Ajinomoto for providing the MTG Activa enzyme. M.L.G. Monteiro would like to thank the National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (project 551079/2011-8) for financial support.

References

- AOAC - Association of Official Analytical Chemists., 2000. Official methods of analysis of AOAC International, seventeenth ed. Gaithersburg, AOAC International.
- APHA – American Public Health Association., 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, fourth ed. Washington, APHA.
- Binsi, P.K., Shamasundar, B.A., 2012. Purification and characterization of transglutaminase from four fish species: Effect of added transglutaminase on the viscoelastic behaviour of fish mince. *Food Chem.* 132, 1922–1929.
- Boles, J.A., Swan, J.E., 1996. Effect of post-slaughter processing and freezing on the functionality of hot-boned meat from young bull. *Meat Sci.* 44, 11–18.
- Brewer, M.S., Novakofski, J.E., 2008. Consumer quality evaluation of aging of beef. *J. Food Sci.* 73, S78-S82.
- Canto, A.C.V.C.S., Lima, B.R.C.C, Cruz, A.G., Lázaro, C.A., Freitas, D.G.C., Faria, J.A.F., Torrezan, R., Freitas, M.Q., Silva, T.P.J., 2012. Effect of high hydrostatic pressure on the color and texture parameters of refrigerated Caiman (*Caiman crocodilus yacare*) tail meat. *Meat Sci.* 91, 255–260.
- Chin, K.B., Chung, B.K., 2003. Utilization of transglutaminase for the development of low-fat, low-salt sausages and restructured meat products manufactured with pork ham and loins. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 16, 261-265.
- Civille, G.V., 2011. Food Texture: Pleasure and Pain. *Journal of Agricultural and Food Chem.* 59, 1487–1490.
- Cofrades, S., López-López, I., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., Jiménez-Colmenero, F., 2011. Quality characteristics of low-salt restructured poultry with microbial transglutaminase and seaweed. *Meat Sci.* 87, 373–380.
- Conte-Júnior, C.A., Fernández, M., Mano, S.B., 2008. Use of Carbon Dioxide to Control the Microbial Spoilage of Bullfrog (*Rana catesbeiana*) Meat, in: Mendez-Vilas, A. (Eds.), *Modern Multidisciplinary Applied Microbiology*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, pp. 356-361.
- Conte-Júnior, C.A., Peixoto, B.T.M., Lopes, M.M., Franco, R.M., Freitas, M.Q., Fernández, M., Mano, S.B., 2010. Effect of modified atmosphere packaging on the growth/survival of *Yersinia enterocolitica* and natural flora on fresh poultry sausage, in: Méndez-Vilas, A. (Eds.), *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. Formatex, Badajoz, pp. 1217-1223.

- Cozzo-Siqueira, A., Oetterer, M., 2003. Effects of Irradiation and Refrigeration on the Nutrients and Shelf-Life of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. Aquat. Food Prod. Technol. 12, 85-101.
- Damáσιο, M.H., Costell, E., 1991. Análisis sensorial descriptivo: Generación de descriptores e selección de catadores. Rev. Agroquím. Tecnol. Alim. 31, 165–178.
- Desmond, E., 2006. Reducing salt: A challenge for the meat industry. Meat Sci. 74, 188–19.
- Dimitrakopoulou, M.A., Ambrosiadis, J.A., Zetou, F.K., Bloukas, J.G., 2005. Effect of salt and transglutaminase (TG) level and processing conditions on quality characteristics of phosphate-free, cooked, restructured pork shoulder. Meat Sci. 70, 743–749.
- Dornelles, A.S., Rodrigues, S., Garruti, D.S., 2009. Aceitação e perfil sensorial das cachaças produzidas com Kefir e *Saccharomyces cerevisiae*. Cienc. Tecnol. Aliment. 29, 518-522.
- Flanagan, J., Gunning, Y., FitzGerald, R.J., 2003. Effect of cross-linking with transglutaminase on the heat stability and some functional characteristics of sodium caseinate. Food Res. Int. 36, 267–274.
- Gonçalves, A.A., Passos, M.G., 2010. Restructured fish product from white croaker (*Micropogonias furnieri*) mince using microbial transglutaminase. Braz. Arch. Biol. Techn. 53, 987-995.
- Han, M., Zhang, Y., Fei, Y., Xu, X., Zhou, G., 2009. Effect of microbial transglutaminase on NMR relaxometry and microstructure of pork myofibrillar protein gel. Eur. Food Res. Technol. 228, 665–670.
- Heinz, G., Hautzinger, P., 2007. Meat processing technology for small- to medium-scale producers. Food and Agriculture Organization of the United Nations regional office for Asia and the Pacific Bangkok. <<http://www.fao.org/>> Accessed 3. 9. 13.
- ICMSF - International Commission on the Microbiological Specifications for Foods., 1986. Microorganisms in foods, sampling for microbiological analysis: principles and specific applications, second ed. Toronto, University of Toronto Press.
- Ionescu, A., Aprodu, I., Daraba, A., Porneala, L., 2008. The effects of transglutaminase on the functional properties of the myofibrillar protein concentrate obtained from beef heart. Meat Sci. 79, 278–284.
- Jiang, S.T., Hsieh, J.F., Ho, M.L., Chung, Y.C., 2000. Microbial transglutaminase affects gel properties of golden threadfin-bream and pollack surimi. J. Food Sci. 65, 694–699.
- Lima, A., 2008. Crescimento heterogêneo em tilápias cultivadas em tanque rede e submetidas a classificações periódicas. Rev. Bras. Eng. Pesca. 3, 98-100.

- Macedo, J.A., Cavallieri, A.L.F., Cunha, R.L., Sato, H.H., 2010. The effect of transglutaminase from *Streptomyces* sp. CBMAI 837 on the gelation of acidified sodium caseinate. *Int. Dairy J.* 20, 673–679.
- Mahmood, W.A., Sebo, N.H., 2009. Effect of microbial transglutaminase treatment on soft cheese properties. *Mesopotâmia J. Agric.* 37, 1-9.
- Medri, V., Medri, W., Caetano Filho, M., 2009. Growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed diets with different levels of proteins of yeast. *Braz. Arch. Biol. Tech.* 52, 721-728.
- Merck., 2000. *Microbiology Manual*, eleventh ed. Darmstadt, Merck KGoA.
- Monteiro, M.L.G., Mársico, E.T., Canto, A.C.V.C.S., Costa Lima, B.R.C., Lázaro, C.A., Cruz, A.G., Conte-Júnior, C.A., 2013. Partial sodium replacement in value-added product of tilapia without loss of acceptability. *J. Food Sci.* (submitted).
- Monteiro, M.L.G., Mársico, E.T., Teixeira, C.E., Mano, S.B., Conte-Júnior, C.A., Vital, H.C., 2012. Validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados. *Cienc. Rural.* 42, 737-743.
- Monteiro, M.L.G., Mársico, E.T., Viriato, I.M., Souza, J.M.L., Conte-Júnior, C.A., 2012. Preparation of Added Value Byproducts from the Waste Material of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Processing. *J. Aquac. Res. Development.* 3, 1-5.
- Moreno, H.M., Borderías, A.J., Baron, C.P., 2010. Evaluation of some physico-chemical properties of restructured trout and hake mince during cold gelation and chilled storage. *Food Chem.* 120, 410–417.
- Moreno, H.M., Carballo, J., Borderías, A.J., 2008. Influence of alginate and microbial transglutaminase as binding ingredients on restructured fish muscle processed at low temperature. *J. Sci. Food Agric.* 88, 1529–1536.
- Moreno, H.M., Carballo, J., Borderías, A.J., 2010. Gelation of fish muscle using microbial transglutaminase and the effect of sodium chloride and pH levels. *J. Muscle Foods.* 21, 433–450.
- MPA - Ministério da Pesca e Aquicultura., 2012. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, 2012. <<http://www.mpa.gov.br/>> Accessed 3. 9. 13.
- Pietrasik, Z., Li-Chan, E.C.Y., 2002. Response surface methodology study on the effects of salt, microbial transglutaminase and heating temperature on pork batter gel properties. *Food Res. Int.* 35, 387–396.
- Puolanne, E., Peltonen, J., 2013. The effects of high salt and low pH on the water-holding of meat. *Meat Sci.* 93, 167–170.

- Qiao, M., Fletcher, D.L., Smith, D.P., Northcutt, J.K., 2001. The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. *Poult. Sci.* 80, 676-680.
- Ramírez, J.A., Del Ángel, A., Velázquez, G., Vázquez, M., 2006. Production of low-salt restructured fish products from Mexican flounder (*Cyclopsetta chittendeni*) using microbial transglutaminase or whey protein concentrate as binders. *Eur. Food Res. Technol.* 223, 341–345.
- Ramírez, J.A., Martín-Polo, M.O., Bandman, E., 2000. Fish myosin aggregation as affected by freezing and initial physical state. *J. Food Sci.* 65, 556–560.
- Ramírez, J.A., Uresti, R.M., Téllez-Luis, S.J., Vázquez, M., 2002. Using salt and microbial transglutaminase as binding agents in restructured fish products resembling hams. *J. Food Sci.* 67, 1778–1784.
- Ramírez, J.A., Velázquez, G., Echevarría, G.L., Torres, J.A., 2007. Effect of adding insoluble solids from surimi wash water on the functional and mechanical properties of pacific whiting grade A surimi. *Bioresource Technol.* 98, 2148–2153.
- Resurreccion, A.V.A., 2003. Sensory aspects of consumer choices for meat and meat products. *Meat Sci.* 66, 11–20.
- Sanh, T., Sezgin, E., Deveci, O., Senel, E., Benli, M., 2011. Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory properties of set-type yoghurt. *Food Hydrocolloids.* 25, 1477–1481.
- Sen, D.P., 2005. *Advances in Fish Processing Technology*, first ed. New Delhi, Allied Publishers Private Ltd.
- Socol, M.C.H., Oetterer, M., Gallo, C.R., Spoto, M.H.F., Biato, D.O., 2005. Effects of modified atmosphere and vacuum on the shelf life of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. *Braz. J. Food Technol.* 8, 7-15.
- Stone, H., Sidel, J.L., 1998. Quantitative descriptive analysis: developments, applications, and the future. *Food Technol.* 5, 48-52.
- Stone, H., Sidel, J.L., Oliver, S., Woosley, A., Singleton, R.C., 1974. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. *Food Technol.* 28, 24–34.
- Suksomboon, K., Rawdkuen, S., 2010. Effect of microbial transglutaminase on physicochemical properties of ostrich meat ball. *As. J. Food Ag-Ind.* 3, 505-515.
- Tseng, T.F., Liu, D.C., Chen, M.T., 2000. Evaluation of transglutaminase on the quality of low-salt chicken meat-balls. *Meat Sci.* 55, 427-431.

Uran, H., Aksu, F., Yilmaz, İ., Durak, M.Z., 2013. Effect of transglutaminase on the quality properties of chicken breast patties. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 19, 331-335.

Uresti, R.M., Ramírez, J.A., López-Ariasa, N., Vázquez, M., 2003. Negative effect of combining microbial transglutaminase with low methoxyl pectins on the mechanical properties and colour attributes of fish gels. *Food Chem.* 80, 551–556.

Vidotti, R.M., Gonçalves, G.S., 2006. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal. *Instituto de Pesca*, 2006. <<http://www.pesca.sp.gov.br>> Accessed 3. 15. 13.

Wold, S., Sjostrom, M., Eriksson, L., 2001. PLS-Regression: A Basic Tool of Chemometrics. *Chemometr. Intell. Lab.* 58, 109-130.

Table 1. Formulations of restructured tilapia steaks.

Treatments	Ingredients (%)					
	NaCl	MTG	Sodium tripolyphosphate	Chilled Water	Onion powder	Garlic powder
CON	1.5	0.0	0.4	10.0	1.0	1.0
T1	1.5	0.1	0.4	10.0	1.0	1.0
T2	1.5	0.5	0.4	10.0	1.0	1.0
T3	1.5	0.8	0.4	10.0	1.0	1.0

MTG – Microbial transglutaminase

Table 2. Description and references of sensory attributes used in Quantitative Descriptive Analysis of restructured tilapia steaks.

Sample	Attribute	Definition	References
Raw	Color	Light white	Light: Raw hake fillet Dark: Raw shrimp tail
Cooked	Color	Very light white	Light: Cooked shark fillet (<i>Carcharrhinus</i> spp) Dark: Raw tilapia fillet (internal portion)
Cooked	Tilapia flavor	Flavor characterized by tilapia meat	Slight: Grilled tilapia fillet A lot: Brazilian rice spice mix (onion, garlic, and salt) - 1%
Cooked	Tilapia taste	Taste characterized by tilapia meat	Slight: Grilled tilapia fillet A lot: Brazilian rice spice mix (onion, garlic, and salt) – 1,75%
Cooked	Salty taste	Taste characterized by sodium chloride	Slight: Grilled tilapia fillet A lot: 3% of NaCl in water
Cooked	Tenderness	Strength needed to shear at the first bite	Slight: Pickle tuna natural (solid) A lot: Cooked shark fillet (<i>Carcharrhinus</i> spp)
Cooked	Succulence	Amount of juice expelled on chewing	Slight: Pickle tuna natural (solid) A lot: Cooked shark fillet (<i>Carcharrhinus</i> spp)
Cooked	Cohesiveness	Tendency of meat particles to stick together	Slight: Cooked shark fillet (<i>Carcharrhinus</i> spp) A lot: Desalted cod
Cooked	Overall texture	Visual and textural similarity to restructured steak	Slight: Hake steak A lot: Grilled tilapia fillet

Table 3. Proximate composition, cooking yield, instrumental color, and textural attributes of restructured tilapia steaks.

Parameters	Treatments			
	CON	T1	T2	T3
Protein (%)	22.80 ^a	20.95 ^a	22.40 ^a	22.32 ^a
Lipids (%)	2.28 ^a	2.70 ^a	2.59 ^a	2.66 ^a
Ash (%)	2.47 ^a	2.44 ^a	2.52 ^a	2.46 ^a
Moisture (%)	75.07 ^a	74.83 ^a	74.23 ^a	75.28 ^a
Cooking yield	78.24 ^c	83.05 ^b	83.21 ^b	86.21 ^a
Raw attributes	CON	T1	T2	T3
Hardness	958.0 ^b	1553 ^a	1734 ^a	1307 ^a
Springiness	0.8005 ^a	0.7795 ^a	0.7025 ^b	0.6785 ^c
Cohesiveness	0.3880 ^a	0.3815 ^a	0.4270 ^a	0.3575 ^a
Chewiness	481.3 ^a	299.3 ^b	241.1 ^b	235.6 ^b
Resistance	0.1430 ^b	0.1530 ^b	0.1860 ^a	0.1475 ^b
<i>L</i> *	56.01 ^a	57.29 ^a	56.21 ^a	56.19 ^a
<i>a</i> *	6.648 ^a	6.298 ^a	6.566 ^a	6.678 ^a
<i>b</i> *	7.27 ^a	7.66 ^a	7.39 ^a	7.44 ^a
Cooked attributes	CON	T1	T2	T3
Hardness	1900 ^a	1795 ^b	1772 ^b	1724 ^b
Springiness	0.6250 ^a	0.6015 ^a	0.6650 ^a	0.6485 ^a
Cohesiveness	0.2815 ^a	0.2665 ^a	0.2810 ^a	0.3195 ^a
Chewiness	337.9 ^a	291.8 ^b	267.1 ^b	224.9 ^c
Resistance	0.0805 ^a	0.0920 ^a	0.0945 ^a	0.0895 ^a
<i>L</i> *	63.65 ^a	62.55 ^a	61.31 ^a	60.94 ^a
<i>a</i> *	5.668 ^b	5.436 ^a	5.669 ^{ab}	5.598 ^b
<i>b</i> *	14.09 ^{bc}	15.97 ^a	15.50 ^{ab}	12.96 ^c

CON (without MTG); T1 (0.1% of MTG); T2 (0.5% of MTG); T3 (0.8% of MTG).

*L** (darkness), *a** (redness), and *b** (yellowness)

Different letters in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table 4. Quantitative descriptive analysis, consumer sensory and Just-About-Right profile scores of restructured tilapia steaks.

QDA attributes	Treatments			
	CON	T1	T2	T3
Raw color	6.87 ^a	6.85 ^a	6.93 ^a	6.87 ^a
Cooked color	2.35 ^a	2.35 ^a	2.32 ^a	2.31 ^a
Tilapia flavor	7.17 ^a	6.68 ^b	7.02 ^{ab}	7.47 ^a
Tilapia taste	7.29 ^a	6.53 ^b	7.05 ^a	7.47 ^a
Salty taste	5.83 ^c	6.34 ^b	6.34 ^b	7.45 ^a
Tenderness	7.40 ^b	7.67 ^a	7.76 ^a	7.68 ^a
Succulence	6.87 ^b	7.12 ^{ab}	7.51 ^a	7.81 ^a
Cohesiveness	2.78 ^a	2.39 ^b	2.17 ^b	2.16 ^b
Overall texture	6.67 ^a	6.59 ^a	6.39 ^a	6.55 ^a
Consumer attributes	CON	T1	T2	T3
Appearance	7.18 ^a	7.13 ^a	7.28 ^a	7.52 ^a
Cooked color	7.15 ^a	7.13 ^a	7.23 ^a	7.28 ^a
Flavor	6.90 ^a	6.93 ^a	7.18 ^a	7.48 ^a
Taste	6.92 ^a	7.10 ^a	7.40 ^a	7.48 ^a
Texture	7.32 ^a	7.35 ^a	7.67 ^a	7.67 ^a
Succulence	6.98 ^b	7.07 ^b	7.43 ^a	7.63 ^a
Overall acceptance	7.12 ^b	7.13 ^b	7.48 ^a	7.52 ^a
JAR attributes	CON	T1	T2	T3
Salty taste	5.05 ^b	5.13 ^{ab}	5.30 ^{ab}	5.60 ^a
Spicy taste	4.87 ^b	4.87 ^b	5.08 ^{ab}	5.55 ^a
Firmness	5.02 ^a	5.07 ^a	5.37 ^a	5.38 ^a

CON (without MTG); T1 (0.1% of MTG); T2 (0.5% of MTG); T3 (0.8% of MTG).

Different letters in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$).

Figure captions

Figure 1

Fig. 1. Behavior of mesophilic (a), psychrotrophic (b), *Enterobacteriaceae* (c) and pH (d) of restructured tilapia steaks during frozen storage

CON (without MTG); T1 (0.1% of MTG); T2 (0.5% of MTG); T3 (0.8% of MTG).

Different symbols over the bars indicate significant differences between of storage periods and; CON and MTG-treatments ($P < 0.05$).

Figure 2

Fig. 2. Instrumental and sensory data of restructured tilapia steaks in the plane defined by two principal components

CON (without MTG); T1 (0.1% of MTG); T2 (0.5% of MTG); T3 (0.8% of MTG).

Figure 3

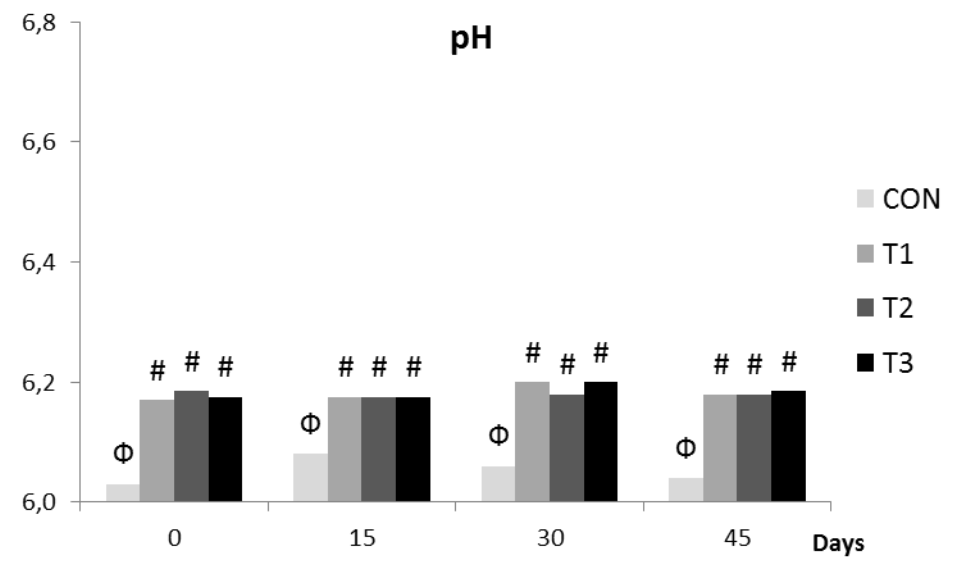
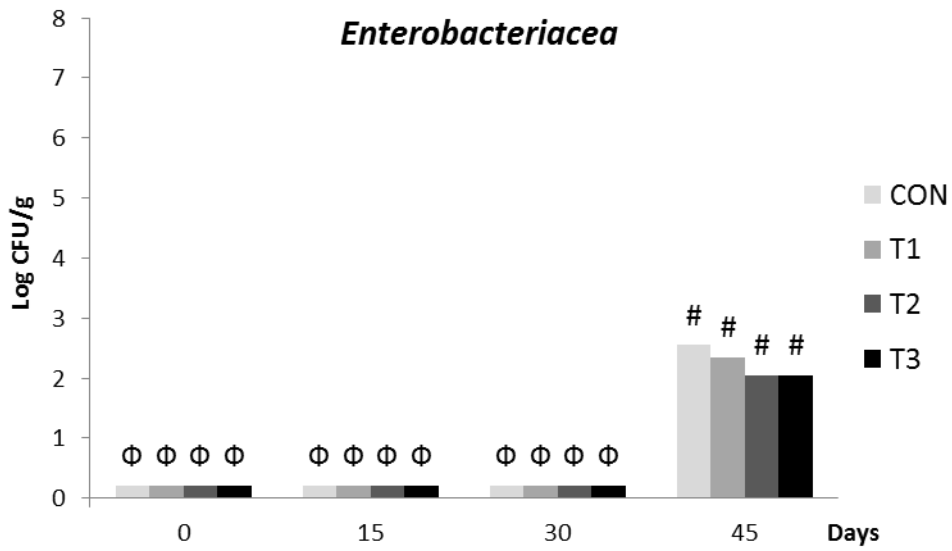
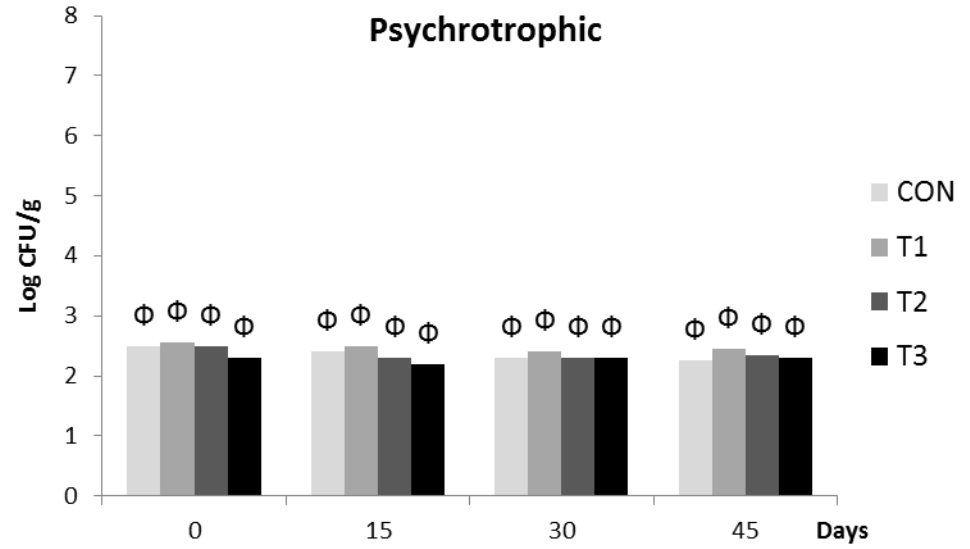
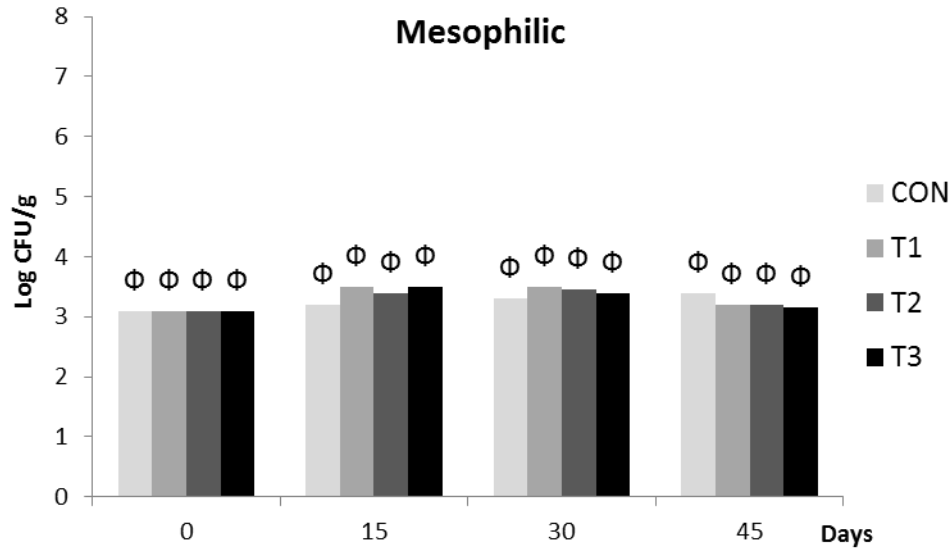
Fig. 3. Partial Least Square regression model for sensory and instrumental attributes of restructured tilapia steaks

X axis = instrumental and sensory attributes; Y axis = consumer acceptance

CON (without MTG); T1 (0.1% of MTG); T2 (0.5% of MTG); T3 (0.8% of MTG).

Figure 4

Fig. 4. Weighted regression coefficients of instrumental and sensory parameters detrimental to consumer acceptance by partial least squares regression



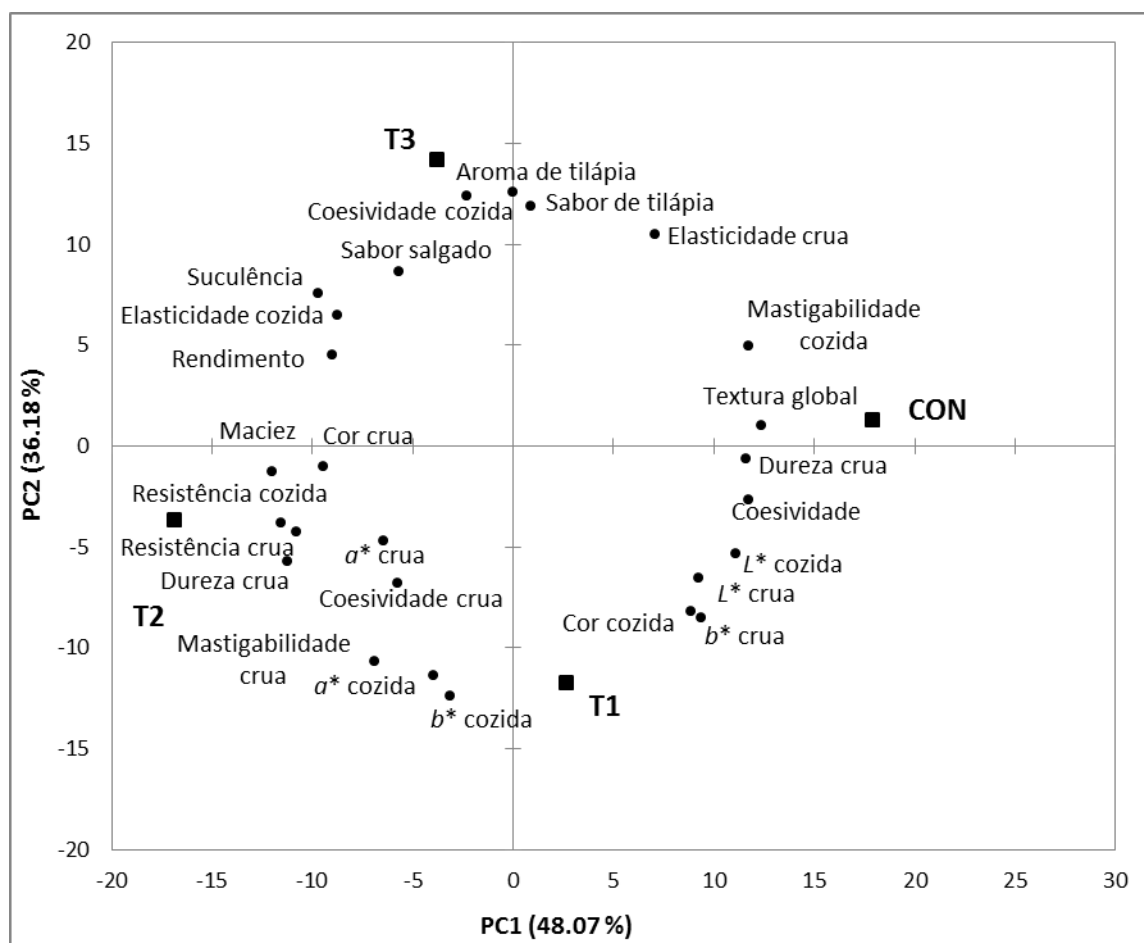


Fig. 2. Instrumental and sensory data of restructured tilapia steaks in the plane defined by two principal components

CON (without MTG); T1 (0.1% of MTG); T2 (0.5% of MTG); T3 (0.8% of MTG).

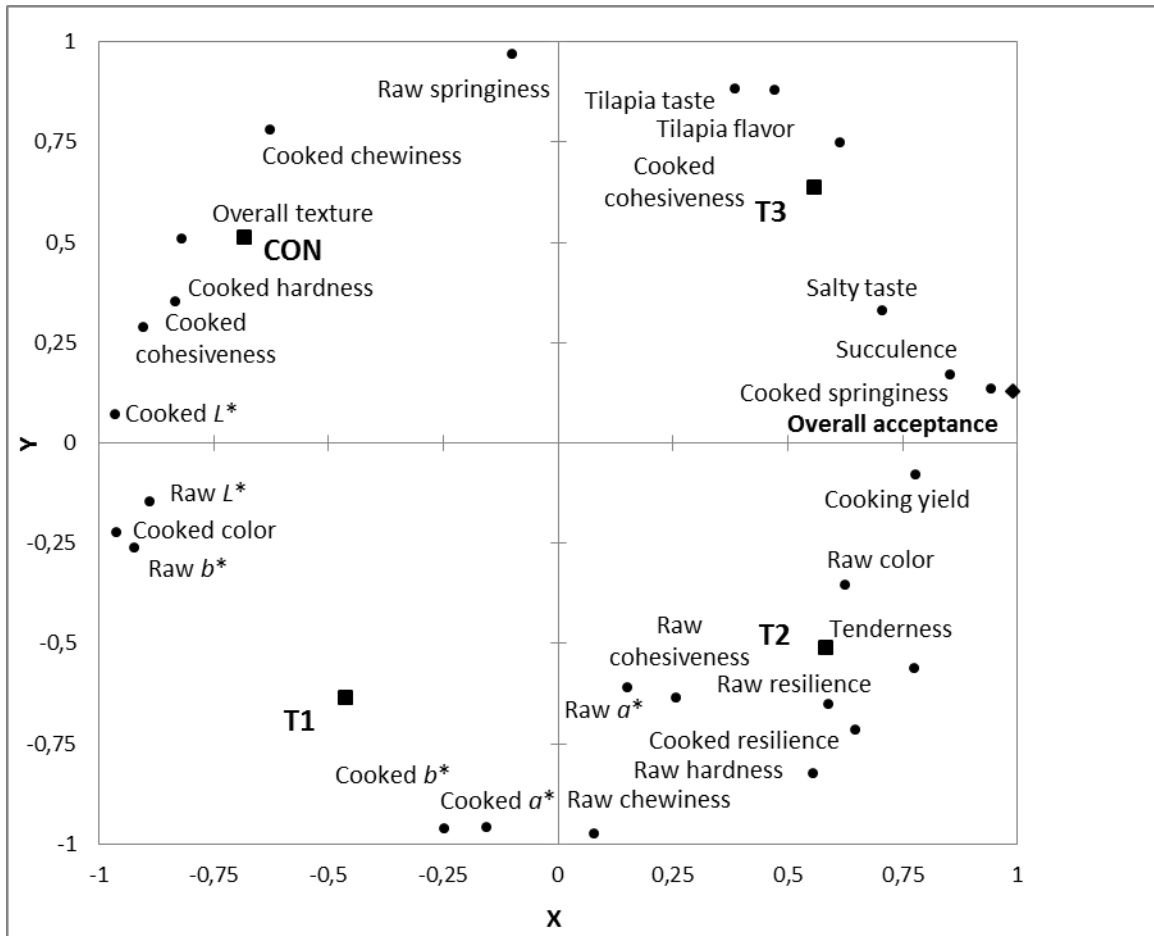


Fig. 3. Partial Least Square regression model for sensory and instrumental attributes of restructured tilapia steaks

X axis = instrumental and sensory attributes; Y axis = consumer acceptance

CON (without MTG); T1 (0.1% of MTG); T2 (0.5% of MTG); T3 (0.8% of MTG).

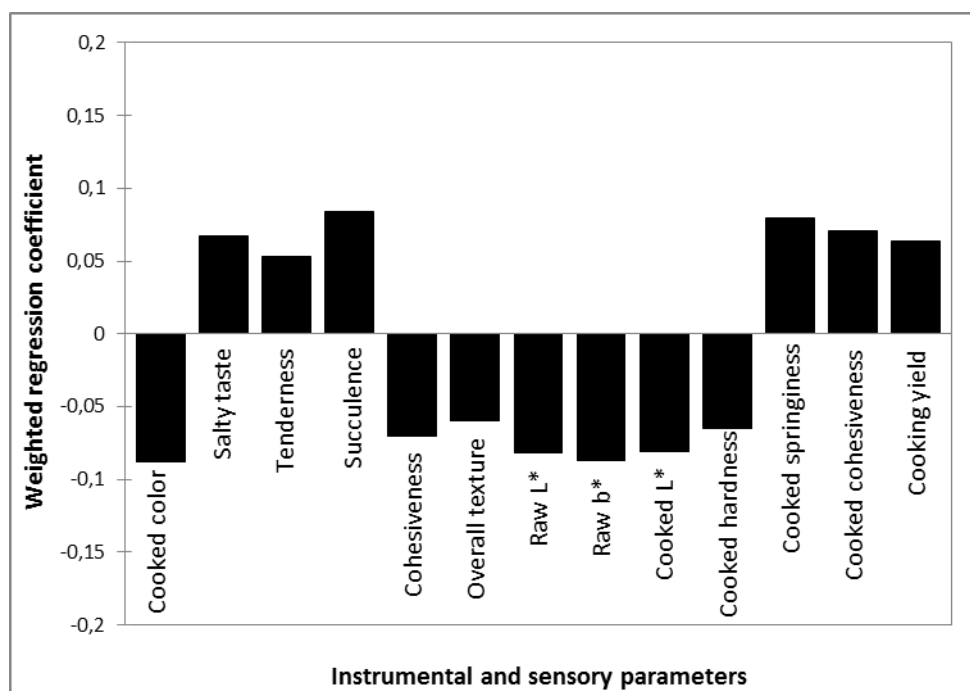


Fig. 4. Weighted regression coefficients of instrumental and sensory parameters detrimental to consumer acceptance by partial least squares regression

3.4 ARTIGO 4: PARTIAL SODIUM REPLACEMENT IN VALUE-ADDED PRODUCT OF TILAPIA WITHOUT LOSS OF ACCEPTABILITY. Submitted to Journal of Food Science (Paper IV)

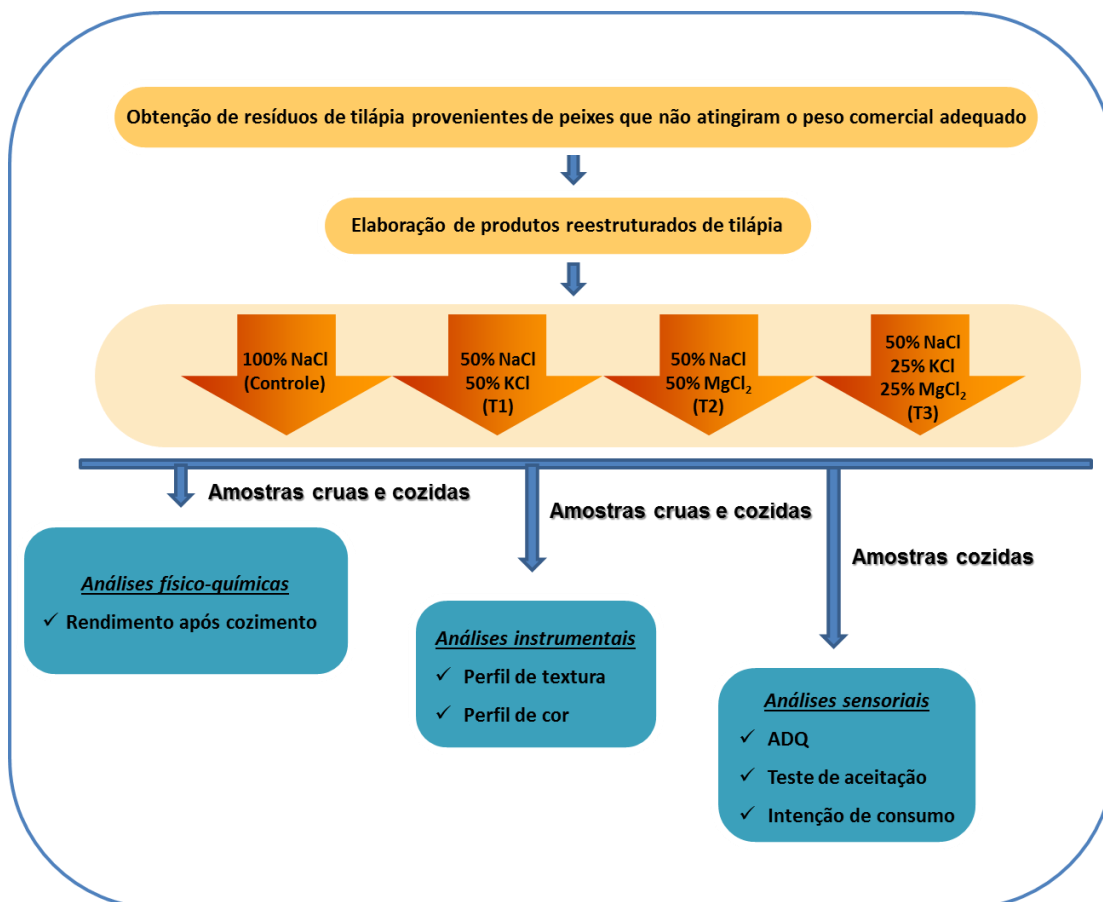


Figura 4. Desenho experimental delineado para desenvolvimento do artigo 4.

Partial sodium replacement in value-added product of tilapia without loss of acceptability

M. L. G. Monteiro^{a*}, E. T. Mársico^a, A.C.V.C.S. Canto^a, B.R.C., Costa Lima^a, C.A. Lázaro^a, A. G. Cruz^b, C. A Conte Júnior^a

^a Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Vital Brazil Filho 64, CEP: 24230-340, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil

^b Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Unidade Maracanã, Rua Senador Furtado Maracanã, CEP: 20270-021 Rio de Janeiro, Brasil

* Corresponding author Tel: + 55-021-2629-9545

E-mail address: marialuciaguerra@yahoo.com.br (M. L. G. Monteiro)

Abstract

The aim of this study was to evaluate physical, chemical and sensory characteristics of low-sodium tilapia steaks restructured with transglutaminase. Polyphosphate (0.4%), condiment mixes - onion powder and garlic powder (2.5%), water (10.0%), transglutaminase (1.0%) and different kinds of salt (1.5%) in fillets of non-commercial size were added. The treatments tested were CON (100% NaCl); T1 (50% NaCl and 50% KCl); T2 (50% NaCl and 50% MgCl₂); and T3 (50% NaCl, 25% KCl and 25% MgCl₂). Addition of KCl and MgCl₂ (50% each) affected some attributes and showed lowest acceptability ($P < 0.05$). The tri-salt (T3) steaks improved some attributes and resulted in better acceptability and purchase intention. We conclude that potassium and magnesium might be an efficient replacer of salt (NaCl) in restructured tilapia steaks for decreasing the risk factor for heart failure associated with high sodium consumption.

Keywords: *Oreochromis niloticus*; Microbial transglutaminase; Salt reduction; Potassium; Magnesium chloride; Restructured steaks.

1. Introduction

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is the most commonly farmed fish in Brazil reaching a nation-wide distribution. In 2010, approximately 155450 tons of tilapia were fabricated representing 39.4% of freshwater fish farming (MPA, 2012).

Fillet is the primary product, and its size is directly linked to the size of the fishes. Heterogeneity in growth performance and rearing methods generates animals below the desired weight and results in economic loss for the industry due to consumer rejection

(Vidotti & Gonçalves, 2006). Usually, this heterogeneous group represents 12-14% of tilapia farming (Lima, 2008).

Restructuring technology offers an alternative method to increase profit of low-value cuts. Several ingredients can be used to improve texture and functional properties of restructured meat products such as polyphosphates, salt, starch, protein isolates and enzymes, which improve binding strength between meat pieces. Microbial transglutaminase (MTG) is one of the most frequently used enzymes developed to be used as dry powder or in a solution that allows easy processing (Moreno, Carballo, & Borderias, 2008).

A high sodium diet is a major risk factor for heart failure. The main source of this ion is through sodium chloride diet intake which is correlated with the risk of coronary heart disease, and is independent of other cardiovascular risk factors including blood pressure, and can lead to increased mortality (He, Burnier, & MacGregor, 2011). Public health policies and greater consumer awareness encourage development of low-sodium products that are similar in texture and flavor to standard products. Low-sodium alternatives focus on the reduction of salt, use of substitutes and adjuvant ingredients (Desmond, 2006). Magnesium and potassium chlorides are commonly used for sodium substitution in meat products (Toldrá & Barat, 2009). However, there is a lack of information about the efficiency the use of salt substitutes and MTG to bind restructured fish products fabricated from tilapia meat.

The objective of this study was to evaluate the effect of different types of salt and their concentrations on instrumental parameters (color and texture) and sensory characteristics of restructured tilapia steak made from fillets of non-commercial size with added transglutaminase.

2. Material and methods

2.1 Fish samples

Seven kg of tilapia fillets of suboptimal size were obtained from a fishery firm in Rio de Janeiro, Brazil. Immediately after harvesting, samples were placed in polyethylene bags, kept on ice (4°C) and transported to the laboratory. The period from harvest to arrival at the laboratory did not exceed two hours.

2.2 Restructured tilapia steak preparation

The fillets were randomly divided in four balanced groups (CON, T1, T2 and T3). Formulation was composed by chilled water (10.0%), sodium polyphosphate (0.4%), mixes of garlic and onion powder (2.5%), MTG (1.0%) and different kinds of salts was added according to each group: CON (100% of sodium chloride - NaCl), T1 (50% of NaCl and 50% of potassium chloride – KCl), T2 (50% of NaCl and 50% of magnesium chloride – Mg₂Cl) and T3 (50% of NaCl, 25% of KCl and 25% of Mg₂Cl). We used active WM (Ajinomoto Co. Inc., Kawasaki, Japan) that contained 99% (w/w) maltodextrin and 1% (w/w) microbial transglutaminase (MTG) from *Streptovercillium* sp. with an activity of 100 U/g. Each treatment was manually homogenized for 10 minutes to absorb ingredients followed by tube casting (diameter of 6 cm) on Poly-Vinyl Chloride Film (PVC). The ends were twisted, sealed and several punctures were made with a syringe needle to release entrapped air. During the whole process the sample temperature did not exceed 12°C. The tubes were stored for cold binding at 4°C for 24 hours. After the binding stage, the PVC film was removed and the cylindrical shaped samples were sliced into steaks of 1.0 cm thickness. Finally, the steaks were individually packed in polyethylene bags, sealed and frozen (-18°C) until further analysis. The experiment was repeated four times providing four replicates (n = 4).

2.3 Cooking yield

Cooking yield was calculated from weight differences of uncooked and cooked samples, after tempering at 25°C and expressed as percentage of initial weight (Boles & Swan, 1996). Samples were grilled until the geometric center temperature reached 75°C.

2.4 Instrumental color analysis

Color was measured using Konica Minolta Sensing model CR 400 (Konica Minolta Inc., Osaka, Japan) and expressed as L^* (darkness), a^* (redness), and b^* (yellowness). Raw color was evaluated as follows: steaks were thawed at 4°C for 5 hours and left for one hour at 25°C for color development. Measurements were then taken from both planar surfaces. Cooked color was evaluated by evenly bisecting cooked steaks to expose the inner surface followed by one hour of tempering at 25°C. Both inner planar surfaces were measured.

2.5 Instrumental texture analysis

Texture profile analysis (TPA) was performed in raw and cooked restructured steaks of tilapia using texture analyzer model TA XT plus (Stable Micro System, Surrey, UK), analyzed by Texture Expert for Windows (Stable Micro System), and expressed as hardness, springiness, cohesiveness, chewiness and resistance (Bourne, 1978). Samples were thawed as described above for color analysis. The samples were compressed at 50% of original height with a cylindrical metal probe (diameter 75 mm, P/75). Two cycles (pre-test speed: 10 mm/s; test speed: 5 mm/s; and post-test speed: 10 mm/s, time between compressions: 5 s) were performed.

2.6 Sensory analysis

2.6.1 *Quantitative Descriptive Analysis (QDA)*

Sensory profiles of raw and cooked products was evaluated by a panel of eight trained participants (two men and six women) aged between 21 and 32, using quantitative descriptive

analysis (QDA) (Stone et al., 1974). The panelists were students from a graduate program on Veterinary Hygiene and Technological Processing of Food of the Fluminense Federal University, experienced in this type of analysis. Panelists were recruited by individual oral interviews. During the training of the sensory panel the panelists defined attributes (color, flavor, taste and texture) by description, references and perception intensity (Table A. 1) in an open discussion amongst panel members, moderated by a discussion leader.

Raw color was evaluated after samples were thawed similarly as previously described. Further attributes were evaluated after cooking as described in the cooking yield analysis. After identification of attributes and references, panelists were trained in the use of descriptive terms. Samples were cut in four pieces and presented to the trained panel at 25°C on disposable white plastic plates. All samples were evaluated under laboratory conditions during 9 sessions. Cream crackers without salt and mineral water (25°C) were offered to clean the palate between samples.

For final evaluation (in individual booths) the trained panel evaluated three replicate samples, based on previously determined references. The samples were served in a monadic way, using a three digit code and presented in a balanced order using a 9 cm linear non-structured quantitative perception intensity scale.

2.6.2 Acceptance and consumers test

Sensory analyses were performed in individual booths by 60 untrained panelists (19 men and 41 women aged between 19 and 48). Samples were evaluated after cooking as described above in the cooking yield analysis and presented at 25°C. The restructured tilapia steaks were randomly presented on white plastic plates. Appearance, color after cooking, flavor, odor, texture, succulence and overall acceptance were evaluated according to a nine-point hedonic scale (1 - dislike extremely and 9 - like extremely) (Stone & Sidel, 1998; Dornelles,

Rodrigues, & Garruti, 2009). Additionally, salty taste, spicy taste, bitter taste and firmness were evaluated using a nine-point Just-About-Right (JAR) scale (1 = extremely too little salty/spicy/bitter taste or firmness; 5 = just about right; 9 = extremely too much salty/spicy/bitter taste or firmness) according to Cervantes, Aoki, and Almeida (2010).

2.7 Statistical analysis

One-way ANOVA was performed to compare the means of each analysis between treatments. Data were analyzed using GraphPad Prism®, (GraphPad Software, San Diego, California, USA) at a 95% confidence level. Principal Components Analysis (PCA) was performed to correlate sensory attributes (QDA), cooking yield, and instrumental color and texture. Partial Least Square regression (PLS) was used to explore relationships between sensory descriptive data (QDA), instrumental data, overall acceptance and cooking yield. In addition, Penalty analysis was used to analyze JAR data to identify possible alternatives for product improvement. Pearson's correlation at the 5% significance level ($P < 0.05$) was performed to correlate instrumental and sensory data (color and texture parameters). PCA, PLS, penalty analysis and Pearson's correlation were performed using XLSTAT version 2012.6.08 (Addinsoft, Paris, France) software.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Cooking yield

T1 and T3 (Table A. 2) did not affect cooking yield of restructured tilapia products ($P > 0.05$), but T2 had the lowest ($P < 0.05$) value for this parameter. Cooking yield is directly related to water-holding capacity and should be enhanced to improve cooking yield (Cumby, Zhong, Naczki, & Shahidi, 2008). In agreement with our findings, Aliño, Grau, Baigts, and Barat (2009) reported that replacing sodium with potassium decreased water loss, while magnesium increased water loss in pork loin. This may be explained by the lower charge density of

potassium compared to magnesium ions that would increase penetration of potassium into muscle cells (Blesa et al., 2008). Moreover, a considerable part of the magnesium content of food may be lost during meal preparation, for example by the extraction of magnesium into cooking water (Vormann, 2003).

3.2 Texture measurements

3.2.1 Raw restructured tilapia steak

Table A. 2 shows texture attributes in raw steaks. Springiness was not affected by different sodium substitutes ($P > 0.05$). T1, T2 and T3 showed higher hardness, chewiness and cohesiveness ($P < 0.05$) than the control (CON). Only T2 did not differ in cohesiveness from CON ($P > 0.05$). Resistance was significantly increased by substituting 50% of NaCl with KCl ($P < 0.05$). Salt replacements promote different changes of the texture parameters, depending on the product. This behavior can be explained by factors which influence meat quality and further processing characteristics, such as species, ultimate pH, moisture and lipid content, additives and processing conditions (Doyle & Glass, 2010).

Nascimento, Campagnol, Monteiro, and Pollonio (2007) related changes in hardness, cohesiveness and chewiness to the addition of 50% KCl in frankfurters. Conversely, Fuentes, Fernández-Segovia, Serra, and Barat (2012) reported that hardness, springiness, cohesiveness and chewiness were not affected by substituting 50% of sodium by potassium chloride in cod.

3.2.2 Cooked restructured tilapia steak

After cooking, CON and T3 steaks had lower hardness, chewiness and resistance than T1 and T2 steaks ($P < 0.05$) (Table A. 2), perhaps related to the high cooking yield of CON and T3. According to Sen (2005), texture is one of the most important factors of meat eating quality, which is determined by its water content. Springiness was greater in T2 ($P < 0.05$), where 50% of NaCl was replaced with $MgCl_2$. Steaks with KCl (T1) had greater cohesiveness while the tri-salt treatment (T3) had the lowest value ($P < 0.05$).

In agreement with our findings, Nascimento, Campagnol, Monteiro, and Pollonio (2007) found that cohesiveness increased when 50% of potassium chloride was added to frankfurters. In contrast to our study, they observed that chewiness and hardness was lower in low-sodium products, and concluded that the concentration of sodium chloride influences the texture of meat products.

Our study suggested that the texture of restructured tilapia steaks produced with a tri-salt blend (T3) was similar to that of products without sodium replacers (CON). Similarly, Horita, Morgano, Celeghini, and Pollonio (2011) concluded that the use of a tri-salt blend (KCl, $MgCl_2$ and NaCl at 1:1:2 ratio) did not lead to differences in texture parameters such as hardness, cohesiveness, springiness and chewiness when compared to mortadella with 100% NaCl. The application of tri-salt blends could therefore be an alternative to using sodium (or NaCl) in restructured fish products.

3.3 Instrumental color

3.3.1 Raw restructured tilapia steak

Raw steaks with T1 had lower lightness (L^*) and greater redness (a^*) compared to CON ($P < 0.05$), while T2 and T3 only showed higher a^* values ($P < 0.05$). Yellowness (b^*) decreased

with KCl while it increased with MgCl₂ ($P < 0.05$). Addition of the tri-salt blend (T3) did not affect b^* values ($P < 0.05$) (Table A. 2). Product color is mostly related to fat content, non-meat ingredients and added/lost water during the processing (Trespacios & Pla, 2007). Tilapia muscle has a high content of pigments and non-structural lipids, which can strongly affect the color of processed tilapia meat and also affect consumer acceptability (Rawdkuenet al., 2009). In our study, color differences were small in samples with salt replacers, indicating the high potential of applying these substitutes in restructured tilapia steaks.

3.3.2 Cooked restructured tilapia steak

Table A. 2 shows color attributes in cooked steaks. After cooking, CON and T1 had higher L^* values ($P < 0.05$), whereas redness values were lower in T1 than in CON ($P < 0.05$). T2 had the highest yellowness values ($P < 0.05$). The addition of potassium and magnesium chlorides (50% each) slightly affected redness (a^*) and yellowness (b^*) in restructured tilapia steaks.

The process of cooking decreases redness and increases lightness and yellowness (Cofrades et al., 2011) by enhancing white coloration. Consumers regard white meat as one of the most important qualities of tilapia (Medri, Medri, & Caetano Filho, 2009). Our results showed that the 50% KCl treatment (T1) intensifies this feature.

Our results confirm the findings of Nascimento, Campagnol, Monteiro, and Pollonio (2007) who observed that frankfurter with sodium replacers (25.0%, 37.5% and 50.0% of KCl) increased lightness (L^*) and decreased redness (a^*), whereas yellowness (b^*) was not affected.

3.4 Quantitative Descriptive Analysis (QDA)

Control samples (CON) were perceived as the most salty ($P < 0.05$) (Table A. 3), while samples with 50% potassium chloride (T1) were more bitter ($P < 0.05$). Tri-salt samples (T3) did not differ in softness when compared with CON ($P > 0.05$), while the softness of T1 and T2 was lower ($P < 0.05$). CON and T3 were more succulent and less cohesive ($P < 0.05$). The treatments did not differ ($P > 0.05$) in raw or cooked color, tilapia flavor, tilapia taste and overall texture. This suggests that, although salt replacers promoted slight changes in instrumental color and texture, consumers were unable to differentiate color and overall texture attributes between treatments.

Lilic, Matekalo-Sverak, and Borovic (2008) showed that the amount of KCl used in meat products is limited by its bitter taste. These authors replaced NaCl with KCl and concluded that a quantity of 20% and 40% did not significantly influence the product taste, whereas 60% and 80% resulted in limited acceptability and unacceptable taste, respectively.

3.5. Principal Component Analysis (PCA)

Principal component analysis (PCA) explained 81.14% of the observed variance (Fig. A. 1). The first component (PC1) contributed 61.26% and separated two groups (CON and T3; T1 and T2) mainly based on the QDA attributes (succulence, cooked color, tilapia taste, tilapia flavor) and instrumental texture parameters (raw chewiness, cooked cohesiveness, cooked hardness). CON and T3 had higher succulence, cooked color and tilapia taste but lower tilapia flavor, raw chewiness, cooked cohesiveness and cooked hardness than the other treatments. Additionally, consumers associated CON and T3 with more tenderness and succulence, probably because of their higher cooking yield. The second component (PC2) explained 19.88% of the total variance, distinguishing two groups (CON and T1; T2 and T3) mainly based on instrumental color parameters (raw b^* and cooked L^*) and overall texture. CON and T1 had lower values for these parameters (except cooked L^*) than the others treatments.

Together, PC1 and 2 separated all treatments (CON; T1; T2 and T3). CON steaks had a more salty taste but no bitter taste, whereas T1 steaks had a more bitter taste than others treatments. Moreover, T1 was categorized by instrumental texture parameters (cooked resistance, cooked chewiness, raw springiness, and raw cohesiveness), QDA raw color and bitter taste. T2 was mainly characterized by greater cohesiveness (QDA), springiness (cooked), b^* (cooked) and overall texture. T1 and T2 were categorized similarly due to lower cooking yield, lower softness and succulence. T3 steaks were categorized by higher succulence, cooking yield and tenderness, with values close to CON. The salty taste, bitter taste, tenderness, succulence and cohesiveness were perceived by consumers in QDA, indicating that these were the most relevant parameters for differentiation of treatments.

Pearson correlation analyses of product attributes (instrumental and sensory) indicated strong correlation between several attributes ($P < 0.05$). Sensory cooked color was correlated with cooked a^* ($r = 0.86$). Sensory cohesiveness was correlated with cooked instrumental hardness ($r = 0.96$), cooked instrumental springiness ($r = 0.87$), and cooked instrumental cohesiveness ($r = 0.89$). Positive correlations were also found between sensory tenderness and cooking yield ($r = 0.83$), sensory bitter taste and cooked instrumental chewiness ($r = 0.91$), and sensory bitter taste and cooked instrumental resistance ($r = 0.81$). Negative correlations were found between sensory raw color and other parameters including sensory tilapia taste ($r = -0.91$), sensory succulence ($r = -0.84$), raw L^* ($r = -0.97$), and cooked a^* ($r = -0.88$). Other negative correlations included sensory tilapia taste and sensory bitter taste ($r = -0.94$), sensory cohesiveness and cooking yield ($r = -0.85$), raw instrumental hardness and raw L^* ($r = -0.86$), raw instrumental springiness and raw L^* ($r = -0.93$), raw instrumental cohesiveness and raw L^* ($r = -0.93$), raw instrumental chewiness and raw L^* ($r = -0.88$), raw instrumental resistance and raw L^* ($r = -0.85$), cooked instrumental springiness and cooking yield ($r = -0.88$), and cooked b^* and cooking yield ($r = -0.81$). The latter explains

greater cooked b^* in T2 steaks, which had a lower cooking yield compared to other treatments.

3.6 Consumer sensory testing

3.6.1. Hedonic scale testing

Table A. 3 lists sensory attributes and overall acceptance of restructured tilapia steaks. CON and T3 had higher succulence and overall acceptance ($P < 0.05$). $MgCl_2$ significantly decreased overall acceptance ($P < 0.05$) when compared to control samples and T3, probably because of higher hardness, chewiness and resistance attributes as well as a lower cooking yield that contributed to a decreased overall acceptance and succulence, respectively.

All treatments showed high acceptability with respect to the evaluated attributes. Treatments did not differ ($P > 0.05$) in appearance, cooked color, flavor, taste and texture attributes, indicating that untrained panelists could not differentiate between the controls and low-sodium restructured tilapia steaks based on these attributes.

In agreement to our results, Aliño, Fuentes, Fernández-Segovia, and Barat (2011) showed high scores in appearance, color, odor, taste and overall acceptance of cooked cod (with regard to taste attributes) with a maximum sodium replacement of 75%. On the other hand, Armenteros, Aristoy, Barat, and Toldrá (2012) showed that reducing NaCl to approximately 40% did not negatively affect sensory properties of dry-cured ham.

Consumer tests showed that 70%, 62% and 76% of consumers would purchase T1, T2 and T3 steaks, respectively, while CON would be bought by 73%. These results suggest that the tri-salt blend (KCl, $MgCl_2$ and NaCl at 1:1:2 ratio) improved the purchase intention for restructured tilapia steak.

Carraro et al. (2012) concluded that replacing 50% NaCl with KCl provided healthier attributes to Bologna sausages. Moreover, physical and chemical qualities and the microbiological safety of these products were not altered. However, the salt replacement in their study reduced purchase intention.

3.6.2 Just-About-Right (JAR) Profile

Sodium replacers had a salty taste close to ideal ($P < 0.05$) on the nine-point scale (Table A. 3). The spicy taste was close to ideal for T3, although treatments did not differ for this attribute ($P > 0.05$). The firmness and bitter taste of CON, T1, T2 and T3 were close to ideal, with a stronger bitter taste of T1. These attributes did not differ ($P > 0.05$) between treatments, suggesting that the consumers were unable to differentiate the low-sodium restructured tilapia steaks by spicy taste, bitter taste and texture. Desmond (2006) concluded that although KCl and NaCl have similar ionic force properties, KCl can decrease sensory quality by reducing the salty taste as well as by increasing bitter, metallic, and astringent taste in meat products. Armenteros, Aristoy, Barat, and Toldrá (2012) found that salt reductions above 40–50% negatively affected the sensory quality of ham, especially of taste, with some bitter and metallic after tastes perceived by consumers. Although these authors observed negative effects when substitutes were used, our data showed that consumers were unable to perceive the difference between these treatments. This indicates that a higher quantity of salt replacers can be used in restructured tilapia products in relation to others foods.

3.6.3 Partial Least Squares Regression (PLSR)

Partial least squares regression (PLSR, Fig. A. 2) explains the contribution of QDA and instrumental parameters to consumer acceptance. The PLSR model explained 100.0% of consumer acceptance (Y-axis) and 80.1% of the trained panel sensory scores and instrumental parameters (X-axis) with an accumulated Q2 of 0.990. The QDA and instrumental attributes were considered relevant when their respective 'Variable Important to the Projection' was > 1.0 (Wold, Sjöström, & Eriksson, 2001).

Sensory cohesiveness, raw instrumental hardness and instrumental texture parameters of cooked steaks (hardness, springiness, cohesiveness, chewiness and resistance) were detrimental attributes while sensory cooked color, tilapia taste, salty taste, tenderness, succulence and cooking yield positively contributed to the overall acceptance (Fig. A. 3). This suggests that consumers could not differentiate bitter taste and instrumental color parameters of raw L^* , a^* and b^* ; cooked L^* , a^* and b^* between control and restructured tilapia steaks with KCl and $MgCl_2$ replacers. Tri-salt steaks (T3) improved some attributes which in turn increased consumer's approval of the product. CON and T3 showed better overall acceptance. Schoene et al. (2009) concluded that partial NaCl replacement produces odor, flavor and texture changes in liver sausage, ground meat, cured and smoked chop, grilled sausage, bologna-type chicken sausage and roasted turkey meat-balls. However, the use of ingredients such as herbs and spice is a promising alternative to suppress or decrease the sensory effects caused by the use of KCl (Ahn, Grün, & Mustapha, 2004).

3.6.4 Penalty analysis

Penalty Analysis is used in sensory data analysis to identify the parameters (for each treatment) that can be improved to increase consumer acceptance by combining the data from the JAR profile and consumer hedonic testing. Major detrimental attributes were those with a > 0.5 penalty score and 20% occurrence. CON, T1 and T2 were penalized as being too salty by 56%, 35% and 25% of consumers, respectively. The consumers concluded that these

steaks were slightly more salty than ideal. CON, T1 and T2 tilapia steaks were penalized for their spicy taste by 40%, 35% and 33% of consumers, respectively, where CON was regarded as too spicy and T1 and T2 as not spicy enough. Apparently, KCl and MgCl₂ decreased the perception of saltiness and spiciness in T1 and T2 steaks. Bitter taste did not influence overall acceptance of all treatments (CON, T1, T2 and T3). T2 steaks were penalized for being too firm by 31% of consumers, probably due the lowest values in cooking yield. The tri-salt (T3) steaks were not penalized for any attributes evaluated, demonstrating its potential for restructured products. The penalty analysis indicated that, in general, the consumers considered the JAR parameters (salty, spicy and bitter taste, firmness) close to ideal for the low-salt restructured tilapia steaks. These results suggest that KCl and MgCl₂ replacers might improve product acceptance.

4. Conclusions

Sodium substitution with KCl and MgCl₂ (50% each) were least acceptable because these salts affected parameters such as succulence, tenderness and salty taste. Additionally, replacing 50% of NaCl with KCl slightly increased bitter taste, but without changing acceptability or color attributes. MgCl₂ replacer slightly decreased cooking yield. The tri-salt blend (KCl, MgCl₂ and NaCl at 1:1:2 ratio) improved attributes and resulted in higher acceptability and purchase intention. Therefore, the salt replacement strategy is a good alternative to help decrease sodium consumption and increase the added value of non-commercial size tilapia fillets.

Acknowledgments

The authors would like to thank Carlos Chagas Filho Foundation for Research Support in the State of Rio de Janeiro – FAPERJ (Project E-26/111.196/2011) for financial support. We thank the regional cooperative (COOPERCRAMMA, Rio de Janeiro, Brazil) for providing samples and AJINOMOTO (Sao Paulo, Brazil) for providing transglutaminase activa enzyme. M.L.G. Monteiro would like to thank the National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (Project 551079/2011-8) for financial support.

5. References

- Ahn, J., Grün, I. U., & Mustapha, A. (2004). Antimicrobial and antioxidant activities of natural extracts in vitro and in ground beef. *Journal of Food Protection*, 67, 148-155.
- Aliño, M., Grau, R., Baigts, D., & Barat, J. M. (2009). Influence of sodium replacement on the salting kinetics of pork loin. *Journal of Food Engineering*, 95, 551–557.
- Aliño, M., Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., & Barat, J.M. (2011). Development of a low-sodium ready-to-eat desalted cod. *Journal of Food Engineering*, 107, 304–310.
- Armenteros, M., Aristoy, M. C, Barat, J. M., & Toldrá, F. (2012). Biochemical and sensory changes in dry-cured ham salted with partial replacement of sodium by a mixture of potassium, calcium and magnesium. *Meat Science*, 90, 361–367.
- Blesa, E., Aliño, M., Barat, J. M., Grau, R., Toldrá, F., & Pagán, M. J. (2008). Microbiology and physico-chemical changes of dry cured ham during the post-salting stage as affected by partial replacement of NaCl by other salts. *Meat Science*, 78, 135–142.
- Boles, J. A., & Swan, J. E. (1996). Effect of post-slaughter processing and freezing on the functionality of hot-boned meat from young bull. *Meat Science*, 44, 11–18.
- Carraro, C. I., Machado, R., Espindola, V., Campagnol, P. C. B., & Pollonio, M. A. R. (2012). The effect of sodium reduction and the use of herbs and spices on the quality and safety of bologna sausage. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 32, 289-295.
- Cervantes, B. G., Aoki, N. A., & Almeida, C. P. M. (2010). Sensory acceptance of fermented cassava starch biscuit prepared with flour okara and data analysis with penalty analysis methodology. *Brazilian Journal of Food Technology*, 19, 3-10.

Cofrades, S., López-López, I., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., & Jiménez-Colmenero, F. (2011). Quality characteristics of low-salt restructured poultry with microbial transglutaminase and seaweed. *Meat Science*, 87, p. 373–380.

Cumby, N., Zhong, Y., Naczk, M., & Shahidi, F. (2008). Antioxidant activity and water-holding capacity of canola protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 109, 144–148.

Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74, 188–196.

Dornelles, A. S., Rodrigues, S., & Garruti, D. S. (2009). Aceitação e perfil sensorial das cachaças produzidas com Kefir e *Saccharomyces cerevisiae*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29, 518-522.

Doyle, M. E., & Glass, K. A. (2010). Sodium Reduction and Its Effects on Food Safety, Food Quality, and Human Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 44-56.

Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Serra, J. A., & Barat, J. M. (2012). Effect of partial sodium replacement on physicochemical parameters of smoked sea bass during storage. *Food Science and Technology International*, 18, 207–217.

He, F. J., Burnier, M., & MacGregor, G. A. (2011). Nutrition in cardiovascular disease: salt in hypertension and heart failure. *European Heart Journal*, 32, 3073–3080.

Horita, C. N., Morgano, M. A., Celeghini, R. M. S., & Pollonio, M. A. R. (2011). Physicochemical and sensory properties of reduced-fat mortadella prepared with blends of calcium, magnesium and potassium chloride as partial substitutes for sodium chloride. *Meat Science*, 89, 426–433.

Lilic, S., Matekalo-Sverak, V., & Borovic, B. (2008). Possibility of replacement of sodium chloride by potassium chloride in cooked sausages – sensory characteristics and health aspects. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 24, 133-138.

Lima, A. (2008). Crescimento heterogêneo em tilápias cultivadas em tanque rede e submetidas a classificações periódicas. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 3, 98-100.

Medri, V., Medri, W., & Caetano Filho, M. (2009). Growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed diets with different levels of proteins of yeast. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52, 721-728.

Moreno, H. M, Carballo, J., & Borderías, A. J. (2008). Influence of alginate and microbial transglutaminase as binding ingredients on restructured fish muscle processed at low temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 1529–1536.

MPA - Ministério da Pesca e Aquicultura. (2012). Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura. Available at <http://www.mpa.gov.br/>. Accessed on December, 2012.

Nascimento, R., Campagnol, P. C. B., Monteiro, E. S., & Pollonio, M. A. R. (2007). Substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio: influência sobre as características físico-químicas e sensoriais de salsichas. *Alimentos e Nutrição*, 18, 297-302.

Rawdkuen, S., Sai-Ut, S., Khamsorn, S., Chaijan, M., & Benjakul, S. (2009). Biochemical and gelling properties of tilapia surimi and protein recovered using an acid-alkaline process. *Food Chemistry*, 112, 112–119.

Schoene, F., Mnich, K., Jahreis, G., Kinast, C., Greiling, A., Kirmse, R., Hartung, H., & Leiterer, M. (2009). Analysis of meat products produced with mineral salt constituents. *Fleischwirtschaft*, 89, 149–152.

Sen, D. P. (2005). *Advances in Fish Processing Technology*. New Delhi: Allied Publishers Private Ltd.

Stone, H., Sidel, J. L., Oliver, S., Woosley, A., & Singleton, R. C. (1974). Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. *Food Technology*, 28, 24–34.

Stone, H., & Sidel, J. L. (1998). Quantitative descriptive analysis: developments, applications, and the future. *Food Technology*, 5, 48-52.

Toldrá, F., & Barat, J. M. (2009). Recent patents for sodium reduction in foods. *Food, Nutrition and Agriculture*, 1, 80–86.

Trespalacios, P., & Pla, R. (2007). Simultaneous application of transglutaminase and high pressure to improve functional properties of chicken meat gels. *Food Chemistry*, 100, 264–272.

Vidotti, R. M., & Gonçalves, G. S. (2006). Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal. Available at www.pesca.sp.gov.br. Accessed on November, 2012.

Vormann, J. (2003). Magnesium: nutrition and metabolism. *Molecular Aspects of Medicine*, 24, 27–37.

Wold, S., Sjostrom, M., & Eriksson, L. (2001). PLS-Regression: A Basic Tool of Chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58, 109-130.

Table A. 1. Description and references of sensory attributes used in Quantitative Descriptive Analysis of restructured tilapia steaks.

Sample	Attribute	Definition	References
Raw	Color	Light white	Light: Raw hake fillet Dark: Raw shrimp tail
Cooked	Color	Very light white	Light: Cooked shark fillet (<i>Carcharrhinus</i> spp) Dark: Raw tilapia fillet (internal portion)
Cooked	Tilapia flavor	Flavor characterized by tilapia meat	Slight: Grilled tilapia fillet A lot: Brazilian rice spice mix (onion, garlic, and salt)
Cooked	Tilapia taste	Taste characterized by tilapia meat	Slight: Grilled tilapia fillet A lot: Brazilian rice spice mix (onion, garlic, and salt)
Cooked	Salty taste	Taste characterized by sodium chloride	Slight: Grilled tilapia fillet A lot: 3% of NaCl in water
Cooked	Bitter taste	Astringent taste	Slight: Grilled tilapia fillet A lot: 3% of Lite salt* in water
Cooked	Tenderness	Strength needed to shear at the first bite	Slight: Pickle tuna natural (solid) A lot: Cooked shark fillet (<i>Carcharrhinus</i> spp)
Cooked	Succulence	Amount of juice expelled on chewing	Slight: Pickle tuna natural (solid) A lot: Cooked shark fillet (<i>Carcharrhinus</i> spp)
Cooked	Cohesiveness	Tendency of meat particles to stick together	Slight: Cooked shark fillet (<i>Carcharrhinus</i> spp) A lot: Pickle tuna natural
Cooked	Overall texture	Visual and textural similarity to restructured steak	Slight: Hake steak A lot: Grilled tilapia fillet

*Lite salt = 50% blend of sodium chloride and potassium chloride.

Table A. 2. Cooking yield, instrumental color, and textural attributes of restructured tilapia steaks.

Parameters	Treatments			
	CON	T1	T2	T3
Cooking yield	80.25 ^a	79.03 ^a	75.33 ^b	79.99 ^a
Raw attributes				
Hardness	679.9 ^b	1471 ^a	1307 ^a	1176 ^a
Springiness	0.7497 ^a	0.7967 ^a	0.7743 ^a	0.7870 ^a
Cohesiveness	0.4560 ^b	0.5360 ^a	0.4943 ^{ab}	0.5210 ^a
Chewiness	188.0 ^b	626.6 ^a	515.0 ^a	488.4 ^a
Resistance	0.1785 ^b	0.2250 ^a	0.1820 ^b	0.1740 ^b
<i>L</i> *	52.33 ^a	48.05 ^b	51.00 ^a	50.31 ^{ab}
<i>a</i> *	4.970 ^c	5.043 ^c	5.525 ^b	6.288 ^a
<i>b</i> *	6.755 ^b	5.070 ^c	7.950 ^a	7.103 ^{ab}
Cooked attributes				
Hardness	638.1 ^b	859.5 ^a	837.2 ^a	693.6 ^b
Springiness	0.8183 ^{bc}	0.8673 ^b	0.9297 ^a	0.7663 ^c
Cohesiveness	0.3937 ^a	0.4457 ^{ab}	0.4407 ^a	0.3720 ^{ac}
Chewiness	240.3 ^b	473.6 ^a	357.5 ^a	199.9 ^b
Resistance	0.1327 ^b	0.1493 ^a	0.1407 ^a	0.1237 ^b
<i>L</i> *	61.13 ^{ab}	62.20 ^a	58.49 ^c	59.53 ^{bc}
<i>a</i> *	5.733 ^a	5.028 ^b	5.523 ^{ab}	5.920 ^a
<i>b</i> *	10.03 ^{ab}	9.688 ^b	10.70 ^a	9.202 ^b

CON (100% NaCl); T1 (50% NaCl + 50% KCl); T2 (50% NaCl + 50% MgCl₂); T3 (50% NaCl + 25% KCl + 25% MgCl₂)

Different letters in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table A. 3. Quantitative descriptive analysis, consumer sensory and Just-About-Right profile scores of restructured tilapia steaks.

QDA attributes	Treatments			
	CON	T1	T2	T3
Raw color	4.01 ^a	4.18 ^a	4.07 ^a	4.05 ^a
Cooked color	3.67 ^a	3.61 ^a	3.62 ^a	3.73 ^a
Tilapia flavor	6.37 ^a	6.73 ^a	6.58 ^a	6.54 ^a
Tilapia taste	6.93 ^a	6.32 ^a	6.55 ^a	6.89 ^a
Salty taste	7.55 ^a	5.54 ^b	5.67 ^b	5.94 ^b
Bitter taste	0.00 ^b	0.45 ^a	0.18 ^b	0.11 ^b
Tenderness	7.26 ^a	6.53 ^b	6.33 ^b	6.89 ^{ab}
Succulence	6.78 ^a	5.49 ^b	5.74 ^b	6.67 ^a
Cohesiveness	2.16 ^b	2.95 ^a	3.16 ^a	2.34 ^b
Overall texture	6.52 ^a	6.68 ^a	7.09 ^a	7.02 ^a
Consumer attributes	CON	T1	T2	T3
Appearance	7.20 ^a	6.82 ^a	6.50 ^a	6.98 ^a
Cooked color	7.21 ^a	6.96 ^a	6.63 ^a	7.15 ^a
Flavor	7.27 ^a	6.82 ^a	6.88 ^a	7.17 ^a
Taste	6.80 ^a	6.82 ^a	6.60 ^a	6.78 ^a
Texture	7.27 ^a	7.08 ^a	6.87 ^a	7.15 ^a
Succulence	7.27 ^a	6.58 ^b	6.48 ^b	7.08 ^a
Overall acceptance	7.22 ^a	6.77 ^{ab}	6.60 ^b	7.17 ^a
JAR attributes	CON	T1	T2	T3
Salty taste	5.98 ^a	5.35 ^b	5.20 ^b	5.13 ^b
Spicy taste	5.42 ^a	4.85 ^b	4.88 ^{ab}	5.03 ^{ab}
Firmness	5.08 ^a	5.17 ^a	5.18 ^a	5.05 ^a
Bitter taste	5.10 ^a	5.30 ^a	5.25 ^a	5.15 ^a

CON (100% NaCl); T1 (50% NaCl + 50% KCl); T2 (50% NaCl + 50% MgCl₂); T3 (50% NaCl + 25% KCl + 25% MgCl₂)

Different letters in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$).

Figure captions

Figure 1

Fig. A. 1. Instrumental and sensory data of restructured tilapia steaks in the plane defined by two principal components

CON (100% NaCl); T1 (50% NaCl + 50% KCl); T2 (50% NaCl + 50% MgCl₂); T3 (50% NaCl + 25% KCl + 25% MgCl₂).

Figure 2

Fig. A. 2. Partial Least Square regression model for sensory and instrumental attributes of restructured tilapia steaks

X axis = instrumental and sensory attributes; Y axis = consumer acceptance

CON (100% NaCl); T1 (50% NaCl + 50% KCl); T2 (50% NaCl + 50% MgCl₂); T3 (50% NaCl + 25% KCl + 25% MgCl₂).

Figure 3

Fig. A. 3. Weighted regression coefficients of instrumental and sensory parameters detrimental to consumer acceptance by partial least squares regression

*CY – Cooking yield

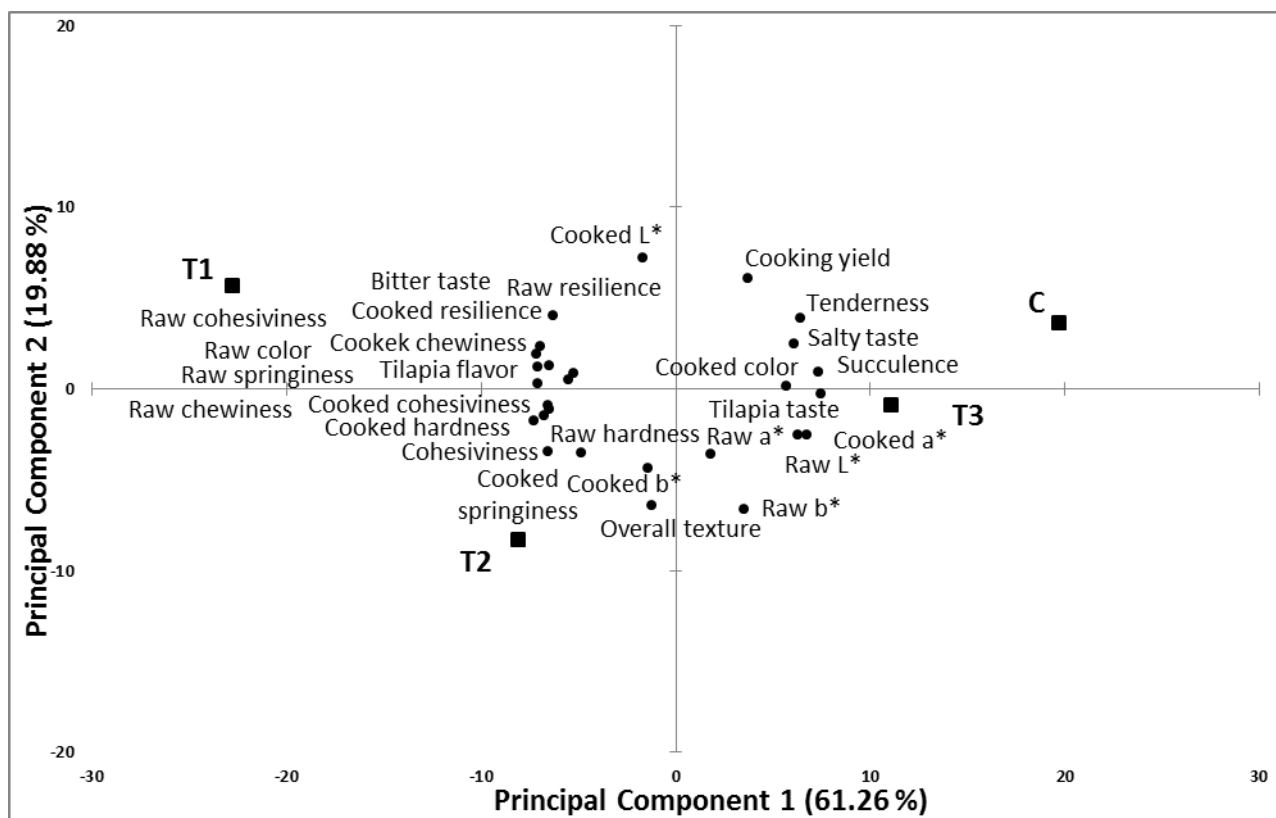


Fig. A. 1. Instrumental and sensory data of restructured tilapia steaks in the plane defined by two principal components

CON (100% NaCl); T1 (50% NaCl + 50% KCl); T2 (50% NaCl + 50% MgCl₂); T3 (50% NaCl + 25% KCl + 25% MgCl₂).

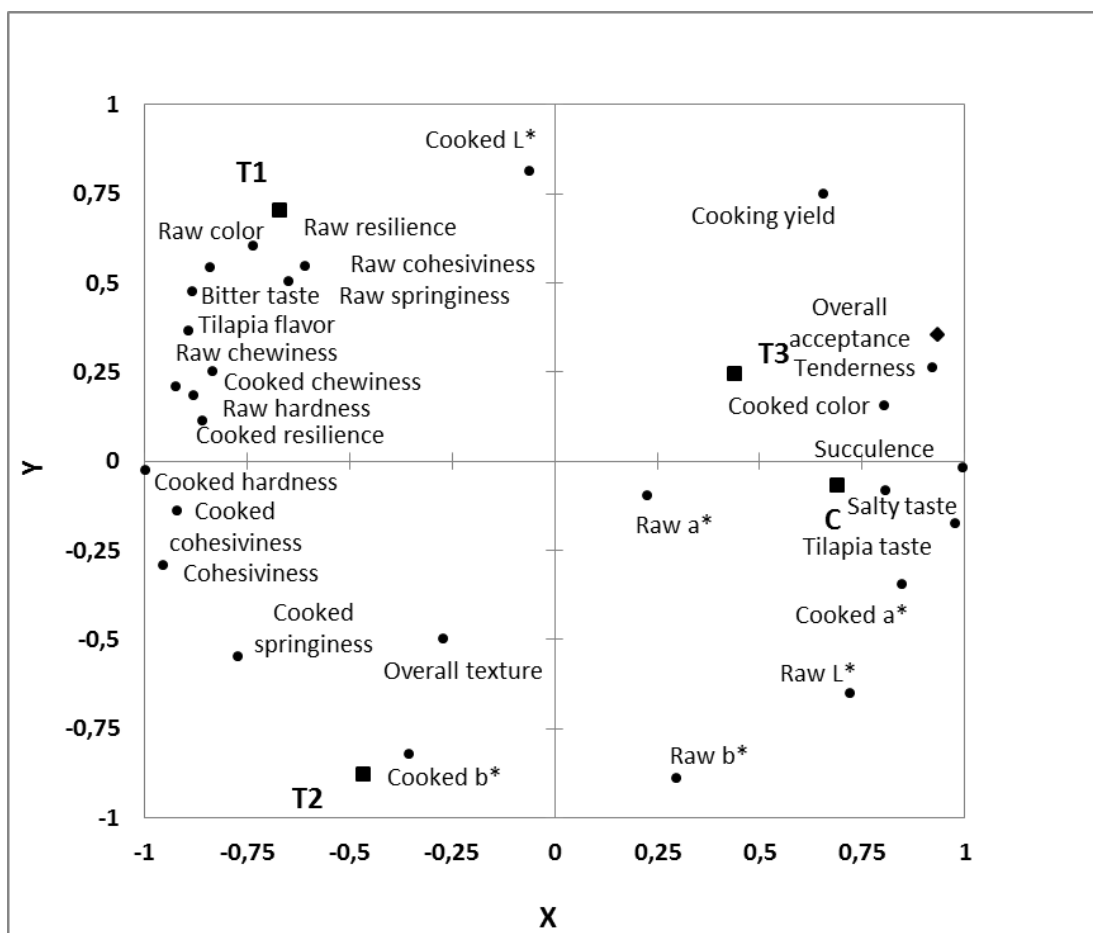


Fig. A. 2. Partial Least Square regression model for sensory and instrumental attributes of restructured tilapia steaks

X axis = instrumental and sensory attributes; Y axis = consumer acceptance

CON (100% NaCl); T1 (50% NaCl + 50% KCl); T2 (50% NaCl + 50% MgCl₂); T3 (50% NaCl + 25% KCl + 25% MgCl₂).

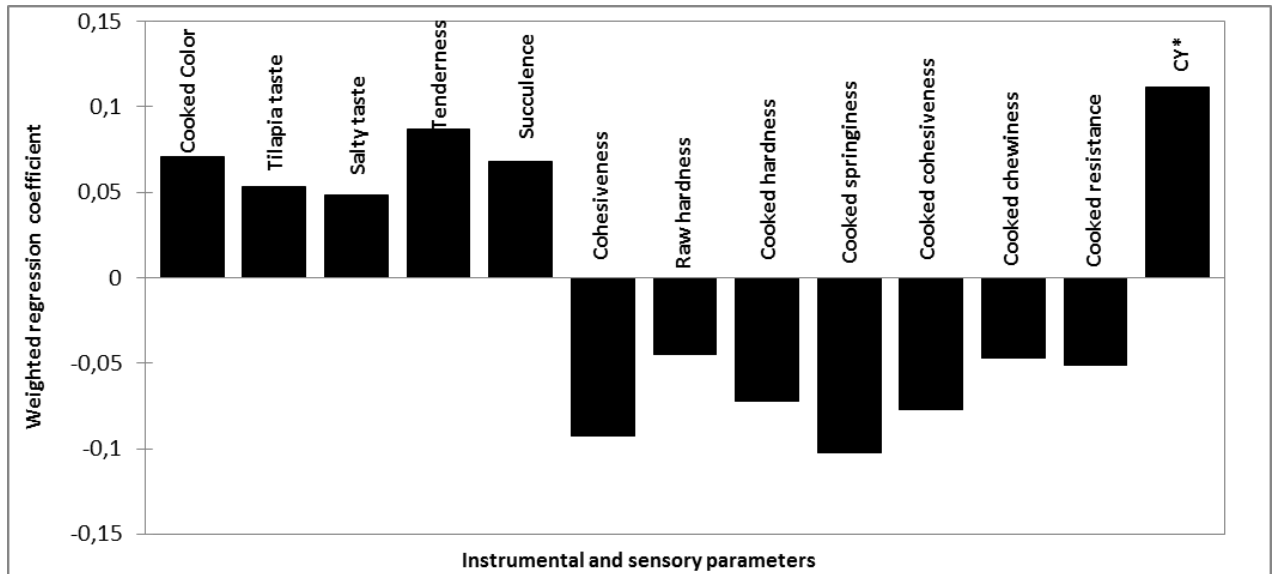


Fig. A. 3. Weighted regression coefficients of instrumental and sensory parameters detrimental to consumer acceptance by partial least squares regression

*CY – Cooking yield

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES

Concluiu-se que os produtos (polpas, farinhas e sopa instantânea) elaborados a partir de resíduos de cabeça e carcaça do processamento de tilápias demonstraram qualidade microbiológica satisfatória e elevado valor nutritivo, incluindo excelente conteúdo proteico e mineral, além de baixo teor de lipídeos na sopa instantânea.

Além disso, os produtos em pó (farinhas e sopa) apresentam características tecnológicas promissoras, indicando a possível utilização dos mesmos como alternativa nas indústrias de alimentos para o desenvolvimento e/ou introdução de novos produtos com valor agregado no mercado.

Em relação aos produtos reestruturados de tilápia, a enzima transglutaminase de origem microbiana manteve as características nutricionais do produto e não demonstrou interferência na multiplicação bacteriana durante o período de estocagem. Ademais, a referida enzima apresentou capacidade de melhorar atributos que contribuíram positivamente para a aceitação global, sendo a concentração de 0,5% de transglutaminase suficiente para obtenção de produtos reestruturados de tilápia com elevada aceitabilidade e intenção de consumo. Os cloretos de potássio (KCl) e magnésio ($MgCl_2$) podem ser utilizados como substitutos ao sal (NaCl) reduzindo os riscos a saúde associados ao elevado consumo de sódio. Adicionalmente, os produtos reestruturados de tilápia contendo 50% de NaCl, 25% de KCl e 25% de $MgCl_2$ obtiveram superior aceitabilidade e intenção de compra, demonstrando o potencial desta formulação como alternativa para as indústrias alimentícias.

Neste contexto, a utilização dos resíduos provenientes do beneficiamento de tilápias pode ser uma alternativa viável como matéria-prima de baixo custo ou baixo valor econômico para a produção de novos produtos e para substituição parcial em produtos comumente elaborados a partir de farinhas convencionais, diminuindo a poluição ambiental, agregando valor aos resíduos, possibilitando alternativa de lucro para indústria, além de atender a demanda dos consumidores atuais por um alimento de fácil preparo, baixo custo, elevado valor nutritivo, inserido nos contextos de funcionalidade, saudabilidade e sustentabilidade.

Ademais, baseando-se nos resultados obtidos, sugere-se a realização de estudos futuros visando a incorporação de farinhas de tilápia em produtos formulados com farinhas convencionais com o intuito de agregar valor nutricional a produtos comumente comercializados.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. *Análise sensorial de alimentos e bebidas* – NBR 12806. Rio de Janeiro: ABNT, 1993. 8p.

ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. *Microbiología de los Alimentos*. Rio de Janeiro: Acribia, 1997. 155 p.

ADELEKE, R. O.; ODEDEJI, J. O. Acceptability Studies on Bread Fortified with Tilapia Fish Flour. *Pakistan Journal of Nutrition*, v. 9, n. 6, p. 531-534, 2010.

AKITA, S.; SACKS, F. M.; SVETKEY, L. P.; CONLIN, P. R.; KIMURA, G. Effect of the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet on the pressure – natriuresis relationship. *Hypertension*, v. 42, n. 1, p. 8–13, 2003.

ALIÑO, M.; GRAU, R.; TOLDRA, F.; BLESÁ, E.; PAGAN, M. J.; BARAT, J. M. Physicochemical properties and microbiology of dry-cured loins obtained by partial sodium replacement with potassium, calcium and magnesium. *Meat Science*, v. 85, n. 3, p. 580-588, 2010.

_____.; FUENTES, A.; FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; BARAT, J. M. Development of a low-sodium ready-to-eat desalted cod. *Journal of Food Engineering*, v. 107, n. 3-4, p. 304–310, 2011.

ALMEIDA, M. A. *Transglutaminase e albumina de ovo em reestruturados cozidos e congelados de frango*. Piracicaba, 2010. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

ALVES, L. C.; CARVALHO, N. L de F.; GUERRA, G. C.; ARAÚJO, C. M. W. Comercialização de Pescado no Distrito Federal: Avaliação das condições. *Revista Higiene Alimentar*, v. 16, n.102/103, p. 41-49, 2002.

ANDERSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PFEIFER, V. F.; GRIFFIN JUNIOR, E. L. Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion-cooking. *Cereal Science Today*, v. 14, n. 1, p. 4-12, 1969.

ANDO, H.; ADACHI, M.; UMEDA, K.; MATSUURA, A.; NONAKA, M.; UCHIO, R.; TANAKA, H.; MOTOKI, M. Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agricultural and biological chemistry*, v. 53, p. 2613-2617, 1989.

ANDRADE, T. F. *Importância das análises físico-químicas no controle de qualidade de alimentos consumidos em Santa Catarina*. Florianópolis, 2012. 32 f. Monografia (Especialização em Saúde Pública) – Departamento de Saúde Pública, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

AVENDANO, F. P. *Aplicação da avaliação sensorial na indústria de alimentos*. Porto Alegre, 2007. 76 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

BALLESTER, J.; DACREMONT, C.; FUR, Y. L.; ETIEVANT, P. The role of olfaction in the elaboration and use of the Chardonnay wine concept. *Food Quality and Preference*, v. 16, n. 4, p. 351-359, 2005.

BARROS, G. C. Perda de qualidade do pescado, deterioração e putrefação. *Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária*, n. 30, p. 59-64, 2003.

BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; KLEEMANN, G.K, HISANO, H.; ROSA, G. J. M. Níveis de vitamina C e ferro para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 31, n. 6, p. 2149-2156, 2002.

BARTOLOMEU, D. A. F. S. *Desenvolvimento e avaliação da aceitação de embutido defumado “tipo mortadela” elaborado com CMS de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) e fibra de trigo*. Curitiba, 2011. 122 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

BERGARA-ALMEIDA, S.; SILVA, A. P. Hedonic scale with reference: performance in obtaining predictive models. *Food Quality and Preference*, v. 13, n. 1, p. 57-64, 2002.

BEUCHAT, L. R.; COUSIN, M. A. Yeasts and molds. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. (Eds.) *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4 ed. Washington: APHA - American Public Health Association, 2001. 1219 p. cap. 20, p. 209-216.

BOMBARDELLI, R. A.; SYPPERRECK, M. A.; SANCHES, E. A. Situação atual e perspectivas para o consumo, processamento e agregação de valor ao pescado. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia*, v. 8, n. 2, p. 181-195, 2005.

BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. *Industrialização de tilápias*. Toledo: GFM Gráfica & Editora, 2007. 272 p.

BOURNE, M. C. *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. 2 ed. New York: Academic Press, 2002. 423p.

BRASIL. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 1952.

_____. Resolução CNNPA nº 12, de 24 de julho de 1978. Aprova as normas técnicas especiais, do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas), para efeito em todo território brasileiro. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 1978.

BRASIL. Resolução - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial [da] da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 2001.

_____. Resolução RDC nº 348, de 02 de dezembro de 2003. Aprova de forma complementar ao Anexo da Resolução CNNPA nº 24 de 1976, a utilização de enzimas na indústria de alimentos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 2003.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. *Estatística da pesca 2007 - Grandes regiões e unidades da federação*, 2007. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/>>. Acesso em: 23 abr. 2013.

CARVALHO FILHO, J. Pesquisa desenvolvendo farinha para alimentação humana a partir de carcaças de peixe é premiada em concurso da Nestlé. *Panorama da Aqüicultura*, v.18, n.107, p.44-45, 2008.

CAVITT, L. C.; MEULLENET, J. F. C.; XIONG, R.; OWENS, C. M. The relationship of razor blade shear, Allo-Kramer shear, Warner-Bratzler shear and sensory tests to changes in tenderness of broiler breast fillets. *Journal of Muscle Foods*, v. 16, p. 223-242, 2005.

CEREDA, M. P. *Propriedades gerais do amido*. Série: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-americanas. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. 221 p.

CHAMBERS, E.; BAKER, W. M. Sensory Testing Methods. *ASTM Manual*, v. 26, p. 38-53, 1996.

CHAN, S. H.; MOSSA, B. W.; FARMER, L. J. GORDON, A.; CUSKELLY, G. J. Comparison of consumer perception and acceptability for steaks cooked to different endpoints: Validation of photographic approach. *Food Chemistry*, v. 136, n. 3-4, p. 1597-1602, 2013.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. *Caderno Didático 66: Prática de Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas*. Viçosa: UFV, 2002. 81p.

CHOU, D. H.; MORR, C. V. Protein-water interactions and functional properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 56, n. 1, p. 53A-62A, 1979.

CIE - Commission Internationale de l'Éclairage. *Colorimetry*. 3 ed. Vienna: CIE Publication, 2004. 82 p.

COLLINS, J. E. Reducing salt (sodium) levels in process meat poultry and fish products. In: PEARSON, A. M.; DUTSON, T. R. (Ed.) *Advances in meat research: production and processing of healthy meat, poultry and fish products*. London: Blackie Academic & Professional, 1997. 367 p. cap. 14, p. 283-297.

CONTE, L. *Produtividade e economicidade da tilapicultura em gaiolas na região sudeste do Estado de São Paulo: estudo de casos*. Piracicaba, 2002. 73 f.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

CORRÊA, L. A. *Comércio e meio ambiente: atuação diplomática brasileira em relação ao selo verde*. Brasília: Fundação Alexandre de Gusmão, 1998. 296 p.

COSTA, M. E. P.; NASCIMENTO, D. M. C.; OLIVEIRA, T. M.; PEREIRA, F. L. ESPINHEIRA, A. R. L. A Qualidade da Água em Pequena Comunidade: Uma Vivência de Extensão – UFBA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 2., 2004, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Pró-Reitoria de Extensão da Universidade Federal de Minas Gerais, 2004. Disponível em: <<http://www.ufmg.br/congrest/Meio/Meio17.pdf>>. Acesso em: 09 jun. 2013.

COULTATE, T. P. *Food: The chemistry of its components*. 5 ed. London: Royal Society of Chemistry Publishing, 2002. 501 p.

COUSIN, M. A.; VASAVADA, P. C. Psychrotrophic Microorganisms. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. (Eds.) *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4 ed. Washington: APHA - American Public Health Association, 2001. 1219 p. cap. 13, p. 159-165.

DASSO, I. Qué ponemos en juego al degustar un alimento? *La Alimentación Latinoamericana*, v. 33, n. 229, p. 34-36, 1999.

DELLA LUCIA, F. *Avaliação físico-química e sensorial de leite U.A.T. (ultra alta temperatura) produzido no Brasil e na Argentina*. Viçosa, 1999. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999.

DELLA LUCIA, S. M. *Métodos estatísticos para a avaliação da influência de características não sensoriais na aceitação, intenção de compra e escolha do consumidor*. Viçosa, 2008. 135 f. Dissertação (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

DE PENNA, E. W. Métodos sensoriales y sus aplicaciones. In: ALMEIDA, T. C. A.; HOUGH, G.; DAMÁSIO, M. H.; DA SILVA, M. A. A. P. (Ed.) *Avanços em análise sensorial*. São Paulo: Editora Livraria Varela, 1999. 286 p. cap. 2, p. 13-22.

DE SOUZA, M. L. R. Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 31, n. 3, p. 1076-1084, 2002.

DIAS, J. A. *A análise sedimentar e o conhecimento dos sistemas marinhos*, 2004. Disponível em: <http://w3.ualg.pt/~jdias/JAD/ebooks/Sedim/SedimB_AG.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2013.

DIJKSTERHUIS, A.; SMITH, P. K.; BAAREN, R. B. V.; WIGBOLDUS, D. H. J. The unconscious consumer: effects of environment on consumer behavior. *Journal of Consumer Psychology*, v. 15, n. 3, p. 193-202, 2005.

DUTCOSKY, S. D. *Análise sensorial de alimentos*. Curitiba: Champagnat, 1996. 123p.

EDUARDO, M. F.; LANNES, S. C. S. Use of texture analysis to determine compaction force of powders. *Journal of Food Engineering*, v. 80, n. 2, p. 568–572, 2007.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *A aquicultura e a atividade pesqueira*, 2005. Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/>>. Acesso em: 20 abr. 2013.

ERDOGAN, A. The aflatoxin contamination of some pepper types sold in Turkey. *Chemosphere*, n. 56, p. 321-325, 2004.

ESAIASSEN, M.; NILSEN, H.; JOENSEN, S.; SKJERDAL, T.; EILERTSEN, G.; GUNDERSEN, B.; ELVEVOLL, E. Effects of catching methods on quality changes during storage of cod (*Gadus morhua*). *Food Science and Technology*, v. 37, n. 6, p. 643-648, 2004.

EVANGELISTA – BARRETO, N.S. *Investigação sobre possíveis portadores de Staphylococcus aureus em duas indústrias de pesca*. Fortaleza, 2001. 92 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

FALCONE, P.; SERAFINI-FRACASSINI, D.; DEL DUCA, S. Comparative studies of transglutaminase activity and substrates in different organs of *Helianthus tuberosus*. *Journal of Plant Physiology*, v. 142, n. 3, p. 265-273, 1993.

FAO – Food and Agriculture Organization. *State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome: FAO Fisheries and Aquaculture Department, 2006. 145 p.

FDA – Food and Drug Administration. *GRAS Notification for Transglutaminase*. Washington: SRA International, Inc., 2001. 136 p.

FERNANDES, M. P.; PINTO, L. S. R. C.; BONNAS, D. S. Aproveitamento de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na elaboração de empanados. *Enciclopédia Biosfera*, v. 7, n. 13, p. 1385-1390, 2011.

FIGUEIREDO, C. A. Jr.; VALENTE, A. S. V. Jr. Cultivo de tilápias no Brasil: origens e cenário atual. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, XLVI., 2008, Rio Branco. *Anais...* Rio Branco: SOBER, 2008. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra>>. Acesso em: 25 abr. 2013.

FITZSIMMONS, K.; MARTINEZ-GARCIA, R.; GONZALES-ALANIS, P. Why tilapia is becoming the most important food fish on the planet. In: International Symposium in

Tilapia in Aquaculture, 9th., 2011, China. *Proceedings...* China: Shanghai Ocean University, 2011.

FOEGEDING, E. A. Rheology and sensory texture of biopolymer gels. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 12, n. 4-5, p. 242- 250, 2007.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

GALDIOLI, E. M.; HAYASHI, C.; FARIA, A. C. E. A.; SOARES, C. Substituição parcial e total da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para alevinos de piavuçu, *Leporinus macrocephalus*. *Acta Scientiarum*, v. 23, n. 4, p. 835-840, 2001.

GASPAR, J.; VIEIRA, R.; TAPIA, M. Aspectos Sanitários do pescado de origem de água doce e marinha, comercializado na feira de Gentilândia, Fortaleza, Ceará. *Revista Higiene Alimentar*, v. 11, n. 51, p.20-23, 1997.

GELEIJNSE, J. M.; KOK, F. J.; GROBBEE, D. E. Blood pressure response to changes in sodium and potassium intake: a metaregression analysis of randomised trials. *Journal of Human Hypertension*, v. 17, n. 7, p. 471-80, 2003.

GERHARDT, C.; WIEST, J. M.; GIROLOMETTO, G.; SILVA, M. A. S.; WESCHENFELDER, S. Aproveitamento da casca de citros na perspectiva de alimentos: prospecção da atividade antibacteriana. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 15, n. spe, p.11-17, 2012.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. *Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos*. São Paulo: Varela, 2003. 653 p.

GODOY, L. C.; FRANCO, M. L. R.; FRANCO, N. P.; SILVA, A. F.; ASSIS, M. F.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J. V. Análise sensorial de caldos e canjas elaborados com farinha de carcaças de peixes defumados: aplicação na merenda escolar. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v. 30, n. supl. 1, p. 86-89, 2010.

GONÇALVES, A.; HERNANDEZ, C. P. Defumação líquida de anchova (*Pomatus saltatrix*) efeito do processamento nas propriedades químicas e microbiológicas. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 4, p. 438-443, 1998.

GRIZOTTO, R. K.; MENEZES, H. C. Avaliação da Aceitação de “Chips” de Mandioca. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 23, n. supl., p. 79 – 86, 2003.

GUILBERT, S.; MORIN, P. Définition et mesure de l'activité de l'eau: revue des méthodes pratiques et critiques théoriques. *Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie*, v. 19, p. 395-400, 1986.

HEIMANN, J. C. Sal e hipertensão: aspectos históricos e práticos. *Revista Brasileira de Hipertensão*, v. 7, n. 1, p. 11-13, 2000.

HORITA, C.N.; MORGANO, M. A.; CELEGHINI, R. M. S.; POLLONIO, M. A. R. Physico-chemical and sensory properties of reduced-fat mortadella prepared with blends of calcium, magnesium and potassium chloride as partial substitutes for sodium chloride. *Meat Science*, v. 89, n. 4, p. 426–433, 2011.

HORST, J. A.; SILVA, M.S.G. Contagem bacteriana: indicador de qualidade do leite. *Revista Balde Branco*, v. 77, p.16-17, 2005.

IAL – Instituto Adolfo Lutz. *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications*. 2 ed. London: Blackwell Scientific Publications, 1986. 131 p.

JAKABI, M.; BUZZO, A. A.; RISTORI, C. A.; TAVECHIO, A. T.; SAKUMA, H.; PAULA, A. M. R.; GELLI, D. S. Observações Laboratoriais sobre surtos alimentares de *Salmonella* ocorridos na grande São Paulo no período de 1994 a 1997. *Revista do Instituto Adolfo Luz*, v. 58, n. 1, p. 47-51, 1999.

JEE, S. H.; MILLER, E. R.; GUALLAR, E.; SINGH, V. K.; APPEL, L. J.; KLAG, M. J. The effect of magnesium supplementation on blood pressure: a meta-analysis of randomized clinical trials. *American Journal of Hypertension*, v. 15, n. 8, p. 691-696, 2002.

JELLINEK, G. *Sensory evaluation of food: Theory and Practice*. Germany: Ellis Horwood Publisher, 1985. 429 p.

JIANG, S. T.; LEU, S. Z.; TSAI, G. J. Cross-linking of mackerel surimi actomyosin by microbial transglutaminase and ultraviolet irradiation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, p. 5278-5282, 1998.

JOHNSON, L.; VICKERS, Z. Avoiding the centering bias or range effect when determining an optimum level of sweetness in lemonade. *Journal of Sensory Studies*, v. 2, n. 4, p. 283-292, 1987.

JOHNSTON, M. R.; LIN, R. C. FDA views on the importance of A_w in good manufacturing practice. In: ROCKLAND, L. B.; BEUCHAT, L. R. (Eds.) *Water Activity: Theory and Applications to Food*. New York: Marcel Dekker Inc., 1987. 404 p. cap. 3, p. 287-294.

KANAJI, T.; OSAKI, H.; TAKAO, T.; KAWAJIRI, H.; IDE, H.; MOTOKI, M.; SHIMONISHI, Y. Primary structure from a microbial transglutaminase from *Streptovercillium* sp. Strain s-8112. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 268, n. 16, p. 11575-11572, 1993.

- KAUFMANNA, A.; KÖPPELA, R.; WIDMERA, M. Determination of microbial transglutaminase in meat and meat products. *Food Additives & Contaminants: Part A*, v. 29, n. 9, p. 1364-1373, 2012.
- KEETON, J. T. Formed and emulsion products. In: SAMS, A. R. (Ed.). *Poultry meat processing*. Boca Raton: Taylor and Francis Group, 2001. 334 p. cap. 12, p. 195-226.
- KIRCHHOFF, S. Green Business and Blue Angels: A Model of Voluntary Overcompliance with Asymmetric Information. *Environmental and Resource Economics*, v. 15, n. 4, p. 403–420, 2000.
- KIRSCHNIK, P. G. *Avaliação da estabilidade de produtos obtidos de carne mecanicamente separada de tilápia nilótica (Oreochromis niloticus)*. Jaboticabal, 2007. 102 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura da UNESP, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.
- KUBITZA, F. *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. São Paulo: Acqua Supre Com. Suprim. Aquicultura Ltda, 2000. 289 p.
- KUBITZA, F. Tilápias na bola de cristal. *Panorama da Aquicultura*, v. 17, n. 99, p.15-21, 2007.
- LAJOLO, F. M. As deficiências da composição de alimentos no Brasil. In: REUNIÃO ANUAL DO CONSÓRCIO DAS INSTITUIÇÕES BRASILEIRAS DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO, XV., 1995, São Paulo. *Anais...* São Paulo: Universidade de São Paulo, 1995.
- LARRE, C.; KEDZIOR, Z. M.; CHENU, M. G.; VIROBEN, G.; GUEGUEN, J. Action of transglutaminase on an 11S seed protein (*pea legumin*): influence of the substrate conformation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 40, n. 7, p. 1121-1126, 1992.
- LASSOUED, N.; DELARUE, J.; LAUNAY, B.; MICHON, C. Baked product texture: correlations between instrumental and sensory characterization using Flash Profile. *Journal of Cereal Science*, v. 48, n. 1, p. 133-143, 2008.
- LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. *Sensory evaluation of food: principles and practices*. New York: Chapman & Hall, 1998. 848 p.
- LEITE, M. J. C. *Utilização de microrganismos eficazes como probióticos no cultivo de tilápias do Nilo*. Areia, 2009. 63 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2009.
- LI, R.; CARPENTER, J. A.; CHENEY, R. Sensory and instrumental properties of smoked sausage made with Mechanically Separated Poultry (MSP) meat and wheat protein. *Journal of Food Science*, v. 63, n. 5, p. 923–929, 1998.
- LIMA, A. Crescimento heterogêneo em tilápias cultivadas em tanque rede e submetidas a classificações periódicas. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, v. 3, n. 3, p. 98-100, 2008.

- LIMA, C. B. C.; HENRIQUES, V. M. C.; CARDONHA, A. M. S. Avaliação sensorial e microbiológica de hambúrguer de peixe Tilápia (*Oreochromis niloticus*) produzido artesanalmente. *Higiene Alimentar*, v. 23, n. 174-175, p. 94-98, 2009.
- LIMA, R. M. F.; LUZ, J. A. M. Análise granulométrica por técnicas que se baseiam na sedimentação gravitacional: Lei de Stokes. *Revista Escola de Minas*, v. 54, n. 2, p. 155-159, 2001.
- LUND, V. X.; FIGUEIRA, M. L. O. *Criação de tilápia*. São Paulo: Livraria Nobel, 1989. 63 p.
- LUNELLI, A. C.; LOPES, C. P.; WARMLING, C. A.; ALVES, F. S.; COLLE, G. D.; SANTANA, G. A.; ROSA, R. R.; NURENBERG, Z. R. Morbidades em idosos e sua relação com o hábito de leitura da rotulagem de alimentos. *Revista de Iniciação Científica*, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2006.
- MAIA, A. B. R.; GOLGHER, M. Parâmetros para Avaliação da Qualidade de Reconstituição do Leite em pó Desidratado em Secador de Aspersão (“Spray-Drier”). *Boletim SBCTA*, v. 17, n. 3, p. 235-254, 1983.
- MANCIA, G.; DE BACKER, G.; DOMINICZAK, A.; CIFKOVA, R.; FAGARD, R.; GERMANO, G.; GRASSI, G.; HEAGERTY, A. M.; KJELDSEN, S. E.; LAUREN, S.; NARKIEWICZ, K.; RUILOPE, L.; RYNKIEWICZ, A.; SCHMIEDER, R. E.; STRUIJKER BOUDIER, H. . J.; ZANCHETTI, A. Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, v. 28, n. 12, p. 1462-536, 2007.
- MARENGONI, N. G. Produção de tilápias do nilo *Oreochromis niloticus* (Linhagem Chitralada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. *Archivos de Zootecnia*, v. 55, n. 210, p. 127-138, 2006.
- _____.; POZZA, M. S. S.; BRAGA, G. C.; LAZZERI, D. B.; CASTILHA, L. D.; BUENO, G. W.; PASQUETTI, T. J.; POLESE, C. Caracterização microbiológica, sensorial e centesimal de fishburgers de carne de tilápia mecanicamente separada. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 10, n. 1, p.168-176, 2009.
- MARTINI, L. A. Magnesium supplementation and bone turnover. *Nutrition Reviews*, v. 57, n. 7, p. 227–229, 1999.
- MEIRELLES, P. G.; BIAZON, L.; ONO, M. A.; HIROOKA, E. Y.; ONO, E. Y. S. Imunoensaios: uma alternativa para a detecção de fungos toxigênicos em alimentos. *Ciências Agrárias*, v. 27, n. 4, p. 617-628, 2006.
- MELLO, S. C. R. P.; FREITAS, M. Q.; CLEMENTE, S. C. S.; FRANCO, R. M.; NOGUEIRA, E. B.; PINTO, M. D. S. R. Caracterização química e bacteriológica de polpa e surimi obtidos do espinhaço residual da filetagem de tilápia. *Revista Ciência Rural*, v. 40, n. 3, p. 648-653, 2010.
- MENDES, L. H.; VELOSO, T. *Valor Econômico destaca crescimento do mercado de pescado no Brasil*. Caderno B16/Agronegócios, 2012.
- MENG, J.; FENG, P.; DOYLE, M. P. Pathogenic *Escherichia coli*. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. (Eds.) *Compendium of methods for the microbiological examination of*

foods. 4 ed. Washington: APHA - American Public Health Association, 2001. 1219 p. cap. 35, p. 331-341.

MEULLENET, J. F.; XIONG, R.; FINDLAY, C. *Multivariate and probabilistic analyses of sensory science problems*. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. 256 p.

MINOZZO, M. G.; WASZCZYNSKYJ, N.; BOSCOL, W. R. Utilização de carne mecanicamente separada de tilápia (*Oreochromis niloticus*) para a produção de patês cremoso e pastoso. *Alimentos e Nutrição*, v.19, n.3, p. 315-319, 2008.

MONTEIRO, C. L. B. Análise sensorial – seleção e treinamento de equipes de degustadores. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, v. 2, n. 1, p. 19-26, 1984.

MORAES, M. A. C. *Métodos para avaliação sensorial dos alimentos*. 5 ed. Campinas: Editora Unicamp, 1985. 85p.

MORENO, H. M.; CARBALLO, J.; BORDERÍAS, J. Gelation of fish muscle using microbial transglutaminase and the effect of sodium chloride and pH levels. *Journal of Muscle Foods*, v. 21, n. 3, p. 433–450, 2010.

MOTOKI, M.; KUMAZAWA, Y. Recent research trends in transglutaminase technology for food processing. *Food Science Technology Research*, v. 6, n. 3, p. 151-160, 2000.

MOURA, A. F. P.; MAYER, M. B.; LANDGRAF, M.; TENUTA FILHO, A. Qualidade química e microbiológica de camarão-rosa comercializado em São Paulo. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 39, n. 2, p. 203-208, 2003.

MPA - Ministério da Pesca e Aquicultura. *O potencial brasileiro para a aquicultura*, 2011. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/>>. Acesso em: 25 abr. 2013.

MPA - Ministério da Pesca e Aquicultura. *Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura*, 2012. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/>>. Acesso em: 25 abr. 2013.

NEVES, R. Os salgados portugueses no séc. XX - que perspectivas para as salinas portuguesas no séc. XXI? In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE O SAL PORTUGUÊS, I., 2005, Porto. *Anais...* Porto: Instituto de História Moderna da Universidade do Porto, 2005.

NUNES, I. L.; MAGAGNIN, G.; BERTOLIN, T. E.; FURLONG, E.B. Arroz comercializado na região sul do Brasil: aspectos micotoxicológicos e microscópicos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, n. 2, p. 190-194, 2003.

OETTERER, M. *Agroindústrias beneficiadoras de pescado cultivado: unidades modulares e polivalentes para implantação, com enfoque nos pontos críticos higiênicos e nutricionais*. Piracicaba, 1999. 196 f. Tese (Livre – Docência em Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

OGAWA, M.; MAIA, E. *Manual de Pesca – Ciência e Tecnologia de Pescados*. São Paulo: Livraria Varela, 1999. 430p.

OHTSUKA, T.; UMEZAW, Y.; NIO, N.; KUBOTA, K. A Comparison of deamidation activity of transglutaminases. *Journal of Food Science*, v. 66, n. 1, p. 25-29, 2001.

OLIVEIRA FILHO, P. R. C.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; TRINDADE, M. A.; BALIEIRO, J. C. C.; VIEGAS, E. M. M. Quality of sausage elaborated using minced Nile Tilapia submitted to cold storage. *Scientia Agricola*, v. 67, n. 2, p.183-190, 2010.

OLIVEIRA, M. C.; CRUZ, G. R. B.; ALMEIDA, N. M. Características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de "almôndegas" à base de polpa de Tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Ciências biológicas e da saúde*, v. 14, n. 1, p. 37-44, 2012.

OLIVEIRA, M. M.; PIMENTA, M. E. S. G.; CAMARGO, A. C. S.; FIORINI, J. E.; PIMENTA, C. J. Silagem de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com ácido fórmico – análise bromatológica, físico-química e microbiológica. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 30, n. 6, p.1218-1223, 2006.

OLIVO, R.; GUARNIERI, P. D.; SHIMOKOMAKI, M. Fatores que influenciam na cor de filés de peito de frango. *Revista Nacional da Carne*, n. 289, p. 44-49, 2001.

PANGBORN, R. M. Sensory evaluation of foods: a look backward and forward. *Food Technology*, v. 18, n. 9, p. 63-67, 1964.

PAULINO, R.; LEMOS, A. L. C.; NESTRI, M.; ANDRADE, J. C.; HAGUIWARA, M. M. H. Efeito do tipo de cominuição e de ingredientes não cárneos em reestruturados bovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 20., 2006, Curitiba. *Anais...* Campinas: Instituto Tecnologia de Alimentos, 2006.

PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, R. N. *Microbiologia: conceitos e aplicações*. São Paulo: Makron books, 1998. 517p.

PEREIRA, A. C.; CARVALHO, P. P. M. O. ; SILVA, R. A .G. S. *Criação de tilápias: Pólo de piscicultura*. Rio de Janeiro: FIPERJ. Informe técnico, 2000. 23 p.

PEREIRA, E. P.; GAMEIRO, A. H. Análise da tilapicultura brasileira com ênfase no comércio internacional. CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, XLV., 2007, Londrina. *Anais...* Londrina: Administração e Sociologia Rural, Universidade Estadual de Londrina, 2007.

PEREIRA, M. P.; TELLES, E. O.; DIAS, R. A.; BALIAN, S. C. Descrição do sistema agroindustrial brasileiro de pescado. *Informações Econômicas*, v. 40, n. 3, p. 54-61, 2010.

PESSATTI, M. L. *Aproveitamento dos subprodutos do pescado*. Meta 11. Relatório final de ações prioritárias ao desenvolvimento da pesca e aquicultura no Sul do

Brasil. Convênio Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Universidade do Vale do Itajaí: MA/SARC, n. 003/2000, 2001.

PHILLIPS, F. Don't pass the salt. *Nutrition Bulletin*, v. 28, p.339-340, 2003.

PIETRASIK, Z. Binding and textural properties of beef gels processed with k-carrageenan, egg, albumin and microbial transglutaminase. *Meat Science*, v. 63, n. 3, p. 317-324, 2003.

PINTO, P. S. A. Aspectos Sanitários da salmonelose como uma Zoonose. *Revista Higiene Alimentar*, v. 14, n. 73, p. 39-43, 2001.

POLICARPO, V. M. N.; BORGES, S. V.; ENDO, E.; CASTRO, F. T.; DAMICO, A. A.; CAVALCANTI, N. B. Estabilidade da cor de doces em massa de polpa de umbu (*Spondias Tuberosa* Arr. Cam.) no estágio de maturação verde. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 31, n. 4, p. 1102-1107, 2007.

PONS, M.; FISZMAN, S. M. Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. *Journal of Texture Studies*, v. 27, n. 6, p. 597-624, 1996.

REIS NETO, R. V. *Avaliação genética das características morfológicas de tilápias do Nilo, variedade GIFT, sob seleção para ganho em peso*. Lavras, 2012. 77 f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Departamento de Produção Animal, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

RIBEIRO, A. L. M. S. dos; OLIVEIRA, G. M. de; FERREIRA, V. M.; PEREIRA, M. M. D.; SILVA, P. P. O. Avaliação microbiológica da qualidade do pescado processado, importado no estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v. 16, n. 3, p. 109-112, 2009.

RIBEIRO, E. M. G.; CAVALCANTE, A. F.; SEABRA, L. M. J.; DAMASCENO, K. S. F. S. C. Avaliação Sensorial de formulações de lingüiças de peixe-voador (*Cheilopogon cyanopterus*). *Revista Higiene Alimentar*, v. 22, n. 162, p. 51-56, 2008.

ROCHA, J. B. S. *Utilização de tilápias de baixo valor comercial como fonte protéica na formulação de biscoitos e sopas para a merenda escolar*. Bahia, 2011. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa da Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bahia, 2011.

RUUSUNEN, M.; POULANNE, E. Sodium in meat products. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 50th., 2004, Finland. *Proceedings...* Finland: University of Helsinki, 2004.

SAKAMOTO, H.; KUMASAWA, Y.; MOTOKI, M. Strength of protein gels prepared with microbial transglutaminase as related to reaction conditions. *Journal of Food Science*, v. 59, n. 4, p. 866-871, 1994.

- SANTA ROSA, M. J. *Aproveitamento integral dos resíduos da filetagem de tilápia e avaliação do impacto econômico*. Jaboticabal, 2009. 80 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura da UNESP, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Jaboticabal, 2009.
- SANTOS, R. A. R.; NETA, T. M. S. L.; SANTOS, R. M.; AQUINO, L. C. L.; NUNES, M. L. Avaliação dos Parâmetros Físico-Químicos e Sensoriais de Ceviche de Tilápia em Função do Tempo de Estocagem Refrigerada. *Scientia Plena*, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2011.
- SARY, C.; FRANCISCO, J. G. P.; DALLABONA, B. R.; MACEDO, R. E. F.; GANECO, L. N.; KIRSCHNIK, P. G. Influência da lavagem da carne mecanicamente separada de tilápia sobre a composição e aceitação de seus produtos. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais*, v. 7, n. 4, p. 423-432, 2009.
- SBRT – Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. Coletânea de Repostas Técnicas: Alimentos e Bebidas. Disponível em: <<http://www.inovacao.usp.br/respostastecnicas/>>. Acesso em: 13 jun. 2013.
- SCORVO FILHO, J. D. Custo operacional de produção da criação de tilápias vermelha da flórida e tailandesa em tanques-rede de pequeno volume. *Informações Econômicas*, v. 36, n. 10, p. 71-79, 2006.
- SEABRA, L. M. J.; ZAPATA, J. F. F.; NOGUEIRA, C. M.; DANTAS, M. A.; ALMEIDA, R. B. Fécula de mandioca e farinha de aveia como substitutos de gordura na formulação de hambúrguer de carne ovina. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 22, n. 3, p. 244-248, 2002.
- SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. *Aquicultura e pesca: tilápias*. Estudos de Mercado SEBRAE/ESPM, 2008. Disponível em: <<http://www.biblioteca.sebrae.com.br/>>. Acesso em: 15 abr. 2013.
- SHANKAR, T. J.; SOKHANSANJ, S.; BANDYOPADHYAY, S.; BAWA, A. S. Storage Properties of Low Fat Fish and Rice Flour Coextrudates. *Food and Bioprocess Technology*, v. 3, n. 4, p. 481–490, 2010.
- SHINOHARA, K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; FILHO, J. L. L. Salmonella spp, importante agente patogênico veiculado em alimentos. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.
- SILVA JÚNIOR, E. A. *Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos*. 5 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2002. 479 p.
- SIMÕES, D. R. S.; PEDROSO, M. A. W.; RUIZ, A.; ALMEIDA, T. L. Hambúrgueres formulados com base protéica de pescado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 4, p. 410-413, 1998.
- SIMÕES, M. R.; RIBEIRO, C. F. A.; RIBEIRO, S. C. A.; PARK, K. J.; MURR, F. E. X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa

(*Oreochromis niloticus*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 3, p. 608-613, 2007.

SIQUEIRA, A. A. Z. C. *Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da Tilápia (Oreochromis niloticus)*. Piracicaba, 2001. 154 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SIQUEIRA, R. S. *Manual de microbiologia de alimentos*. Brasília: EMBRAPA, SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA, CTAA, 1995. 159 p.

STONE, H. S.; SIDEL, J. L. *Sensory Evaluation Practices*. San Diego: Academic Press, 1993. 308 p.

STORI, F. T., BONILHA, L. E. C., PESSATTI, M. L. Proposta de aproveitamento dos resíduos das indústrias de beneficiamento de pescado de Santa Catarina com base num sistema gerencial de bolsa de resíduos. In: GARCIA, B. G. (Ed.). *Responsabilidade Social das empresas: uma contribuição das Universidades*. São Paulo: Editora Peirópolis. 2003. 431p. p. 373-406.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W.; ROSNES, T. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 37, n. 2, p. 107-127, 2002.

SOUZA, M. L. R., DOURADO, D. M., MACHADO, S.D., BUCCINI, D. F., JARDIM, M. I. A., MATIAS, R., CORREIA, C., FERREIRA, I. C. Análises da pele de três espécies de peixes: histologia, morfometria e testes de resistência. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 32, n. 6, p. 1551-1559, 2003.

STEVANATO, F. B.; COTTICA, S. M.; PETENUCCI, M. E.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Evaluation of processing, preservation and chemical and fatty acid composition of Nile tilapia waste. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 34, p. 373–383, 2010.

_____; PETENUCCI, M. E.; MATSUSHITA, M.; MESOMO, M. C.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. E. L.; ALMEIDA, V. V.; VISENTAINER, J. V. Avaliação química e sensorial da farinha de resíduo de tilápias na forma de sopa. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 3, p. 567-571, 2007.

SZCZESNIAK, A. S. Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, v. 13, n. 4, p. 215-225, 2002.

TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 4 ed. São Paulo: Editora UNICAMP, 2011. 164 p.

TORRES, L. L. G.; EL-DASH, A. A.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R.; GERMANI, R.; MIGUEZ, M. Efeito da umidade e da temperatura no processamento de farinha de banana verde (*Musa acuminata*, Grupo AAA) por extrusão

termoplástica. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, n. 2, p. 273- 290, 2005.

TRIJP, H.C.M.V.; PUNTER, P.H.; MICKARTZ, F.; KRUIHOF, L. The quest for the ideal product: Comparing different methods and approaches. *Food Quality and Preference*, v. 18, n. 5, p. 729-740, 2007.

VALADÃO, G. E. S.; ARAUJO, A. C. *Introdução ao Tratamento de Minérios*. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2007. 234 p.

VAN DEN BERG, C.; BRUIN, S. Water activity and its estimation in food system: theoretical aspects. In: ROCKLAND, L. B.; STEWART, G. F. (Ed.) *Water Activity: Influences on Food Quality*. London: Academic Press Inc., 1987. 404 p. cap. 1, p. 1-61.

VAZ, S. K. *Elaboração e caracterização de lingüiça fresca “tipo toscana” de tilápia (Oreochromis niloticus)*. Curitiba, 2005. 113 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

VEIT, J. C.; FREITAS, M. B.; REIS, E. S.; MOORE, O. Q.; FINKLER, J. K.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. Desenvolvimento e caracterização de bolos de chocolate e de cenoura com filé de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Alimentos e Nutrição*, v. 23, n. 3, p. 427-433, 2012.

VICKERS, Z. Sensory specific satiety in lemonade using a just right scale for sweetness. *Journal of Sensory Studies*, v. 3, n. 1, p.1-8., 1988.

VIDIGAL, M. C. T. R. *Caracterização reológica e sensorial de sobremesa láctea diet contendo concentrado protéico de soro*. Viçosa, 2009. 101 f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

WAGNER, P. M.; RIBEIRO, R. P.; MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; POVH, J. A. Avaliação do desempenho produtivo de linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em diferentes fases de criação. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, Maringá, v. 26, n. 2, p. 187-196, 2004.

WHO - World Health Organization. *Protein and aminoacid requirements in human nutrition*. Report of a joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Technical Report Series, n. 935. Geneva: WHO Press, 2007a. 276 p.

WHO - World Health Organization. *Prevention of cardiovascular disease: guidelines for assessment and management of cardiovascular risk*. Geneva: WHO Press, 2007b. 93 p.

XAVIER, Q. A. S. *Desenvolvimento e caracterização de embutido de piranha (Serrasalmus sp)*. Fortaleza, 2009. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

YAN, G.; DU, G.; LI, Y.; CHEN, J.; ZHONG, J. Enhancement of microbial transglutaminase production by *Streptoverticillium mobaraense*: application of a two-stage agitation speed control strategy. *Process Biochemistry*, v. 40, n. 2, p. 936-968, 2005.

YOKOYAMA, K.; NIO, N.; KIKUCHI, Y. Properties and application of microbial transglutaminase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 64, n. 4, p. 447-454, 2004.

ZANINI, M. S.; MARTINS, J. D.; KORRES, A. N.; TOBIAS, A. F. L. Avaliação microbiológica do gelo de balcão frigorífico de peixarias da grande Vitória – ES. *Revista Higiene Alimentar*, v. 15, n. 80/81, p. 122-128, 2001.

ZIMMERMANN, S. *Tilápia é o peixe mais criado no Brasil*, 2004. Disponível em: <<http://www.uov.com.br/biblioteca/>>. Acesso em: 20 jan. 2013.

6 APÊNDICES

6.1 PAPER I



Preparation of Added Value Byproducts from the Waste Material of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Processing

Maria Lúcia G. Monteiro^{1*}, Eliane T. Mársico², Izolda Martins Viriato³, José Marcelino Lima de Souza³ and Carlos A. Conte Júnior²

¹Post-Graduate in Food Technology –Veterinary Facult., Federal Fluminense University, Brazil

²Department of Food Technology of the Federal Fluminense University, Niterói, RJ, Brazil

³Regional Cooperative of Fish Farmers, Japulba, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil

Abstract

The heads and carcasses of Nile tilapia were used as the raw materials to produce pulp, flour and instant soup. Moisture, mineral, lipid, protein, and chloride analyses were performed for all of the products, and an additional carbohydrate analysis was performed for the soup product. Microbiological methods were used to analyze the mesophilic and psychrotrophic bacterial content of the pulp and the mesophilic bacteria, yeast and mold content of the flour and soup. The pulp and flour proximate composition demonstrated appropriate nutritional quality for use in human consumption or as raw materials to produce others products. The soup exhibited low lipid levels, high nutritive value in relation to protein and mineral contents, and satisfactory microbiological quality for consumers. We conclude that tilapia heads and carcasses represent viable source materials as nutritious and low-cost foods to produce new products, which can lead to social, economic and environmental benefits.

Keywords: Freshwater fish; Instant soup; Head; Carcass wastes

Introduction

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is the most widely bred fish species in Brazil, produced nearly nation-wide. In 2009, approximately 132.957 tons of tilapia were produced, representing 39% of pisciculture [1]. Fillets are the national preference for tilapia meat consumption, and wastes with relatively low commercial value are discarded during the filleting process. This waste disposal represents potential pollution for water resources and soil, resulting in severe environmental problems. Tilapia waste contains high protein, mineral and lipids levels. The lipids in tilapia waste include essential fatty acids, largely omega-3 fatty acids such as eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA), which have been demonstrated to reduce cardiovascular disease risk, decrease cholesterol levels, and act as cancer prevention agents in humans [2].

The use of the waste from tilapia filleting to produce fish byproducts represents an alternative financial source for industries and local fish suppliers [3]. In addition, such use could decrease environmental pollution and supply consumers with a nutritious, low-cost, easy-preparation food. Increasing the accessibility of these products could contribute to increased fish consumption in Brazil [4].

Therefore, the study aimed to develop and evaluate by chemical and microbiological methods new products, including an instant soup, produced from the heads and carcasses of tilapia (*Oreochromis niloticus*).

Materials and Methods

Approximately 20 kg of tilapia carcasses and heads were obtained from the Regional Cooperative of Fish farmers (COOPERCRAMMA) in Cachoeira de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. Tilapia wastes (carcasses and heads) were placed separately in a depulper. Subsequently, the pulp was placed in polyethylene bags, weighed, sealed and transported in isothermal containers with ice to the laboratory. The carcasses and head pulp were placed into proper recipient containers (layers of approximately 1 cm) and were subjected to temperatures of 180 ± 10°C in a conventional oven for 1 hour and 40 minutes. The mass formed during this process was then milled in multiprocessor for two minutes. Subsequently, the heating (200°C for 40 minutes) and milling

procedures were repeated to obtain carcass and head flour. Next, the carcass and head flour were mixed in 6:1 ratio, respectively, and placed again in a multiprocessor for the same time as described above. To obtain instant soup, maltodextrin (41.5%), salt (3.1%), vegetable soup (9.8%), modified starch (10.4%) and dried onion (20.7%) were mixed with carcass and head flour.

The samples were separated according to the type of raw material (1-head, 2-carcass and 3-head and carcass) and the processing byproduct (P-pulp, F-flour and S-soup): P1 (head pulp), P2 (carcass pulp), F1 (head flour), F2 (carcass flour), F3 (head and carcass flour) and S3 (instant soup with head and carcass flour).

The moisture, lipid, protein, chloride and mineral content were calculated for all byproducts in accordance with the Association of Official Analytical Chemist Techniques [5]. In the soup byproduct, a carbohydrate analysis was also performed according to the Adolfo Lutz Institute methodology [6]. Mesophilic and psychrotrophic aerobic heterotrophic bacterial counts were performed in the pulp samples, and mesophilic aerobic heterotrophic bacterial, yeast and mold counts were performed in the flour and soup samples [7-9]. All analyses were performed in duplicate.

The results were submitted to a variance analysis at a probability level of 5% (p<0.05) using Tukey's test and InStat 3.0 Program GraphPad[®].

Results and Discussion

Table 1 presents the chemical composition values for the pulp

*Corresponding author: Maria Lúcia G. Monteiro, Department of Food Technology, The Federal Fluminense University, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil, 24230-340; Tel: 5521-2629-9545, E-mail: marialuciaguerra@yahoo.com.br

Received June 12, 2012; Accepted September 24, 2012; Published October 04, 2012

Citation: Monteiro MLG, Mársico ET, Viriato IM, Lima de Souza JM, Conte Júnior CA (2012) Preparation of Added Value Byproducts from the Waste Material of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Processing. J Aquacult Res Dev 3:150 doi:10.4172/2155-9546.1000150

Copyright: © 2012 Monteiro MLG, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Products	Protein (%)	Lipid (%)	Minerals (%)	Moisture (%)	Chloride (%)
P1	10.17 ^a ± 0.13	16.02 ^a ± 0.06	2.14 ^a ± 0.06	67.43 ^a ± 1.15	0.17 ^a ± 0.04
P2	11.98 ^a ± 1.25	6.94 ^a ± 1.13	1.37 ^a ± 0.01	72.84 ^b ± 0.62	0.13 ^a ± 0.10
F1	37.10 ^b ± 0.85	56.35 ^b ± 0.07	4.48 ^b ± 0.02	1.98 ^b ± 0.01	0.46 ^b ± 0.00
F2	58.82 ^b ± 1.05	26.04 ^b ± 0.62	3.42 ^b ± 0.02	5.05 ^b ± 0.21	0.49 ^b ± 0.01
F3	56.15 ^b ± 1.35	30.14 ^b ± 0.34	3.89 ^b ± 0.01	4.01 ^b ± 0.04	0.47 ^b ± 0.01
S3	51.66 ^b ± 0.01	6.81 ^b ± 0.08	10.00 ^c ± 0.12	7.26 ^c ± 0.06	8.29 ^c ± 0.12

P1=head pulp, P2=carcass pulp, F1=head flour, F2=carcass flour, F3=head and carcass flour, S3=Instant soup with head and carcass flour.

Different letters in the same column indicate significant differences (p<0.05)

Table 1: Chemical analysis byproducts from tilapia (*Oreochromis niloticus*) processing.

samples (P1 and P2): 10.17% and 11.98% (protein), 16.02% and 6.94% (lipids), 2.14% and 1.37% (mineral content), 67.43% and 72.84% (moisture), respectively. Resende (2010) described similar results in mechanically deboned tilapia meat (14.63% protein, 10.07% lipid, 0.73% mineral content and 73.90% moisture). According to some authors, tilapia waste after beheading and gutting was composed of 10.75% protein, 12.99% lipid, 1.00% mineral, and 74.70% moisture contents [10]. Variations between these results were observed and can be explained by the type of waste and the exogenous (catching season, environmental conditions, feed) and endogenous factors (species-specific physiological characteristics as spawning and migration) that contribute to changes in nutritional composition [11].

Significant differences (p<0.05) were observed between the composition of the two pulp samples (P1 and P2) with the exception of their protein values. An increased lipid level and, consequently, lower moisture content was observed in head pulp (P1); an inverse relationship for these same compounds was observed in carcass pulp (P2). This is commonly observed in freshwater fish [12].

Nutritionally, tilapia heads can be used to produce fish byproducts due to their high lipid content, which includes polyunsaturated fatty acids, largely the omega-6 (n-6) and -3 (n-3) fatty acids that exhibit human health benefits [2].

According to the same author, tilapia heads exhibit high mineral levels dominated by calcium, iron and phosphorus [2]. This property could contribute to the increased mineral content observed in the head pulp (P1) in comparison with the carcass pulp (P2). Although the variation values described in literature vary according to the extrinsic and intrinsic factors mentioned above, the nutritional composition of tilapia waste (head and carcass pulp) is comparable to the nutritive data of tilapia fillets described by others authors. Nutritive values of 83.6% (moisture), 1.6% (mineral content), 1.4% (lipid) and 13.7% (protein) [13]. Therefore, head and carcass pulp may represent a more significant lipid, particularly polyunsaturated fatty acids, and mineral source in comparison to fillets [14].

Table 1 demonstrates that there were significant differences (p<0.05) in the composition of the pulps (P1 and P2) and flour (F1, F2 e F3) samples, likely due to the heating step. The heating step removes free water and some of the weakly bound water from the food, decreasing the moisture and, consequently, increasing the concentration of the nutritional constituents in the dried products (flours), a fact described by some authors, who determined the proximate composition of tilapia protein concentrate prepared from mechanically deboned meat submitted to successive washing and drying in an oven with forced circulation at 65°C for three hours [15].

The proximate composition of tilapia heads has been reported as 16.48% protein, 9.56% lipid, 5.72% mineral content and 67.24%

moisture [14]. Tilapia head flour was evaluated by some authors and revealed a composition of 38.41% (protein), 35.46% (lipid), 19.38% (mineral content) and 6.01% (moisture) [16]. These values differ from the moisture, mineral and lipid composition observed in this study. According to some researchers, there is direct relationship between fish nutritional parameters and their diet and environment, including those fish cultivated with optimal control of rearing conditions. Another important factor to consider is the wide variation in the mineral content in this experiment compared with the results described by the author mentioned above [17]. This discrepancy can be explained by the amount of residue obtained, which may vary according to head size, fish weight, and rearing system, as well as the technological aspects related to the type of cut, the press for oil removal, the system for meat separation in different equipment, etc. [18]. Due to the factors previously mentioned, there is disagreement in the proximate composition of tilapia waste reported in the literature [19-22]. The composition of 50.37% protein, 21.77% lipid, 18.75% mineral and 5.90% moisture was observed in tilapia waste flour, whereas values of 56%, 16%, 22% and 4% for proteins, lipids, minerals and moisture were described by others authors [19,20]. 65.69% (protein), 10.54% (lipid), 17.05% (mineral content) and 5.60% (moisture) was observed in flour from tilapia after the gutting and washing processes [21]. The proximate composition of tilapia flour was evaluated and reported 77.96% protein, 9.43% lipid, 13.98% mineral content and 2.22% moisture [22].

Table 1 presents the moisture and mineral content results of instant soup prepared from head and carcass flour (S3), which differed significantly (p<0.05) from the content of the pulp (P1 and P2) and flour (F1, F2 and F3) samples. Compared with the other byproducts (pulp and flour), the average moisture of the soup was of an intermediate value. Instant soup (S3) exhibited a mineral content higher than the pulp (P1 and P2) and flour (F1, F2 and F3) samples, representing a higher mineral content in the final product. The soup was determined to be nutritionally relevant by a proximate composition analysis. This analysis revealed the total lipid level to be less than the average value in the byproducts prepared with the waste from tilapia processing (P1, P2, F1, F2 and F3), contributing to a product with low lipid levels and a significant percentage of polyunsaturated fatty acids, especially linoleic acid and alpha-linolenic acid, as well as high levels of omega-3 fatty acids, mainly eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) [2,16].

Significant differences (p<0.05) were observed between the protein content of the pulp (P1 and P2) samples and that of other the products (F1, F2, F3 and S3), which exhibited a higher protein content than the pulps, possibly due to the concentration of the solid constituents of the byproducts during the heating step. There was no significant difference (p>0.05) between the F2 (carcass flour) and F3 (head and carcass flour) flour samples, but significant differences (p<0.05) were observed between the head flour (F1) and the other (F2 and F3) flour samples. This latter result supports the use both residues, head and carcass, in instant soup preparation (S3) for two reasons. First, the protein levels in the soup were similar to the maximum protein values found in the flours (F2 and F3); thus, the mixing of both residues can create a product with a high level of animal-origin protein. Additionally, the use of both residues is low-cost and consequently reduces further environmental impact. The flour with tilapia head is a product with high levels of proteins, minerals and lipids, notably essential fatty acids. Tilapia heads could be used as low-cost raw materials to prepare food products, thereby adding more value to fish waste and decreasing environmental pollution [14]. A study concluded that the flours and

others nutritive products produced from gutted and washed tilapia are a viable alternative to preparing fish byproducts [21].

There was no significant difference ($p > 0.05$) between the chloride content of the pulp (P1 and P2) samples, which were determined to be 0.17% and 0.13%, respectively. The chloride content of the pulp, flour or soup from the wastes of freshwater fish filleting are rarely found in the literature. The values observed in this study are lower than the results equal to 0.38% in tilapia cold fillets related in literature [23]. Chloride levels equal to 0.70% was observed in the same product [13], possibly due to the addition of salt (0.3 to 0.6%) in fish depuration during the transport step. This procedure is frequently performed to prevent white spot lesions and external fungal and bacterial infections to decrease fish mortality during transport [24]. There was no way to control this step because the samples were obtained in a cooperative. Furthermore, water used in the processing of foods of animal origin must adhere to the current standards and rules of water potability intended for human consumption, which allow the addition of some salts like calcium, magnesium, potassium and sodium chlorides to a maximum value of 250 mg of chlorides/L [25,26]. These facts explain the pulp (P1 and P2) chloride content observed in this experiment. There were significant differences ($p < 0.05$) between the pulp (P1 and P2) sample results and the chlorides values in all of the flour (F1, F2 and F3) samples due to the heating process. There were no significant differences ($p > 0.05$) among the chlorides levels in the flour (F1, F2 and F3) samples, which were 0.46%, 0.49% and 0.47%, respectively.

The soup (S3) samples possessed chloride values (8.29%) higher than all of the other byproducts (P1, P2, F1, F2 and F3) did. Therefore, a significant difference ($p < 0.05$) was observed between the chloride content of soup versus other products, possibly due to the addition of ingredients like salt and vegetable soup. According to the World Health Organization (WHO), levels in excess of 6 g NaCl/day/person are not recommended [27]. In this context, the great challenge of the food industry has been to develop products with the flavor that consumers expect and, simultaneously, to reduce the amount of salt and the association of certain products with diseases like hypertension [28]. Therefore, it is suggested that the instant soup could be reformulated by replacing or removing only those ingredients that affect the sodium chloride level to obtain a new, innovative and healthy product.

There are no reports in the literature of the carbohydrate content in instant soup prepared from tilapia waste. The carbohydrate content of the instant soup was 24.27% due to the addition of ingredients like modified starch and maltodextrin in a 10.4% and 41.5% ratio, respectively. Starch represents an important energy source and has nutritional relevance and an important technological role in processed foods [29]. Starch has thickening power, provides texture, suspends solids, facilitates the processing or the protection of the food during processing, and consequently plays an important role in the composition of a large number of processed foods [30]. Maltodextrin is a starch hydrolysis product and has the ability to reproduce the sensation of fat due to the dimensional network formed during the gelation process [31]. Modified starch and maltodextrin were used to provide consistency and solubility in instant soup after reconstitution with water.

The soup made with fish and rice flour was evaluated and observed carbohydrate values equal to 76.32% [32]. This value is higher than that observed in our study, possibly due to the rice utilized in the formulation of their soup. According to the Brazilian Table of Food Composition, the composition of rice is approximately 79.0% carbohydrate and therefore represents a product with a high concentration of carbohydrates [33].

Products	Mesophilic bacteria*	Psychrotrophic bacteria*	Yeast and molds*
P1	4.8 ^a ± 0.04	3.2 ^a ± 0.01	UR
P2	4.7 ^a ± 0.04	3.0 ^a ± 0.02	UR
F1	3.5 ^b ± 0.02	UR	3.5 ^b ± 0.01
F2	3.4 ^b ± 0.01	UR	3.6 ^b ± 0.40
F3	3.5 ^b ± 0.02	UR	3.5 ^b ± 0.01
S3	3.6 ^b ± 0.03	UR	3.4 ^b ± 0.10

P1=head pulp, P2=carcass pulp, F1=head flour, F2=carcass flour, F3=head and carcass flour, S3=Instant soup with head and carcass flour.

UR: unrealized.

*Values expressed in cfu/g (colony-forming units per gram).

Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$)

Table 2: Microbiological analysis of byproducts from tilapia (*Oreochromis niloticus*) processing.

Table 2 presents the results of our microbial analysis. Brazilian legislation does not provide limits for mesophilic and psychrotrophic aerobic heterotrophic bacterial count in fish products. Therefore, a maximal limit of 7.0 log CFU/g was established for this study in accordance with data described by the International Commission on Microbiological Specifications for Foods [34]. The most foods have sensory detectable changes when a bacterial load greater than 10⁶ CFU/g is present [35]. The maximal limit for yeast and mold in flours and dried soups is 3 Log CFU/g [36].

Mesophilic bacterial values were 4.8 and 4.7 Log CFU/g for the pulp (P1 and P2) samples, respectively, and were thus below the acceptable limit (7.0 Log CFU/g). There was no significant difference ($p > 0.05$) between both of the pulp (head and carcass) samples (table 2). After the death of a fish, the gills represent one of the most important routes of bacteria penetration into the fish's muscle [37]. Therefore, the head pulp (P1) is expected to exhibit a higher bacterial load than that of the carcass waste, a fact that was not observed in this study. This finding demonstrates that the use of heads is viable option in the preparation of fish products. There is no data in the literature concerning the mesophilic aerobic heterotrophic bacterial count in tilapia head pulp, but there are reports of an association of these bacteria with mechanically deboned meat prepared from other processed wastes.

The pulp obtained from residual meat on tilapia spines was evaluated after the filleting process and observed a variation of 6.38 Log CFU/g (minimum value) to 9.04 Log CFU/g (maximum value) in the mesophilic aerobic heterotrophic bacterial count [38]. These values are greater than those obtained in this experiment (4.8 Log CFU/g); thus, the adoption of hygienic and sanitary procedures is extremely relevant to reduce bacterial counts [39]. These results and those of authors previously cited emphasize that tilapia heads can be used as low-cost raw materials to prepare food products, adding value to fish waste and decreasing environmental pollution [14].

Table 2 presents the results of the mesophilic bacterial analysis of the head flour (F1), carcass flour (F2) and flour prepared with both wastes (F3): 3.5, 3.4 and 3.5 Log CFU/g, respectively. These values were within the limit established in this study, providing evidence of favorable hygienic and sanitary conditions in the materials processing and, consequently, allowing for their consumption and use as raw materials to preparing new products. Tilapia head flour has been previously reported to exhibit a mesophilic bacterial count of approximately 4.0 Log CFU/g (4.48 Log CFU/g) [16]. These data are in accord with those described by some authors, which evaluated fish burgers from mechanically deboned tilapia meat and observed mesophilic bacterial counts of approximately 4.0 Log CFU/g (4.35 Log CFU/g) [40].

There were no significant differences ($p>0.05$) among the flour (F1, F2 and F3) samples, but there were significant differences ($p<0.05$) between the pulp (P1 and P2) and flour (F1, F2 and F3) samples. Mesophilic bacterial counts in the flour (F1, F2 and F3) samples were lower than those of the pulp (P1 and P2) samples. This difference was possibly due to a decreased bacterial load caused by the heating process used in flour preparation, which aims to eliminate or reduce the microorganisms responsible for spoilage and/or the potential pathogens in the food. The mesophilic bacterial count in the soup (S3) was 3.6 Log CFU/g, also below the limit established in this experiment. Therefore, the soup can be characterized as an appropriate food for human consumption. It can be inferred that the ingredients added to this product (S3) did not permit any cross-contamination after the flour-heating step, which would render the instant soup unfit for consumption.

Table 2 also presents the psychrotrophic aerobic heterotrophic bacterial counts. There was no significant difference ($p>0.05$) between the head pulp (P1) and carcass pulp (P2), and neither exceeded the bacterial limit (7.0 Log CFU/g). In a study evaluating the hazards and control points in the tilapia filleting process, who was considered one of the critical control points, emphasizing the importance of establishing preventive measures like proper hygienic and sanitary practices and personal training for fish wastes that are submitted to intense handling [41,42]. Thus, the evaluation of the levels of psychrotrophic bacteria in fish is important because these microorganisms are responsible for several sensory changes in refrigerated products [35]. The pulp obtained from residual meat from tilapia spines was evaluated and the variation in the psychrotrophic values (7.04 and 11.57 Log CFU/g) was similar to the results of our experiment [38]. The psychrotrophic bacteria count was performed in mechanically deboned tilapia meat after beheading and gutting and the authors found 2.54 Log CFU/g [43]. This difference can be explained by the variations in good management practices adopted for each study.

There were no significant differences ($p>0.05$) between the flour (F1, F2 and F3) and soup (S3) samples in the yeast and mold counts, but the counts exceeded the limit established in this experiment (3.0 Log CFU/g). Fungal development promotes deterioration in foods of animal origin, and yeast and mold counts are necessary to obtain information concerning the hygienic conditions of the processing, transport and storage of foods [9]. Furthermore, some fungal species, mainly the *Penicillium*, *Aspergillus* and *Fusarium* genera, are considered relevant mycotoxin-producing organisms [44]. Some authors found no yeast or mold development in tilapia flour [22], whereas others researchers observed values in excess of 3.0 Log CFU/g (maximum limit) in wheat flour, indicating some level of yeast and mold contamination in this product [45]. These results can be explained by processing, handling and storage deficiencies. Moreover, these microorganisms are resistant and can remain viable over long periods of time at low concentrations, even if the product is properly packed and free moisture [46]. The study of microorganisms involved in food production and deterioration is extremely important for the industry because knowledge of the metabolic and physiological characteristics of microorganisms promotes the use of proper techniques for food processing and preservation, ensuring appropriate microbiological quality and avoiding damage to public health [35].

Conclusions

We conclude that the processing of tilapia heads and carcasses in the form of pulp and flour produces high nutritive value foods with suitable

protein content and satisfactory microbiological quality. Instant soup prepared from these raw materials exhibits low lipid levels, excellent protein and mineral content and satisfactory microbiological quality.

Tilapia heads and carcasses demonstrate viable, alternative low-cost raw materials to produce new products, thereby decreasing environmental pollution, adding value to fish wastes, increasing industry profits and providing consumers with an easy-to-prepare, low-cost and nutritious food.

Acknowledgment

The authors are thankful for the financial support of the Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), process number E-26/111.196/2011. The authors M.L.G. Monteiro and J.M.L. Souza were supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), process number 551079/2011-8. The Cooperativa Regional de Piscicultores e Raticultores do Vale do Macacu e Adjacências is gratefully acknowledged for providing samples.

References

- MPA (2010) Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura.
- Stevanato FB, Petenucci ME, Matsushita M, Mesomo MC, Souza NE, et al. (2007) Avaliação química e sensorial da farinha de resíduo de tilápias na forma de sopa. *Clénc Tecnol Aliment* 27: 567-571.
- Vaz SK (2005) Elaboração e caracterização de lingüiça fresca "tipo toscana" de tilápia (*Oreochromis niloticus*).
- Kristbergsson K, Arason S (2007) Utilization of by-products in the fish industry. In Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry. Springer, New York, USA.
- Cunniff PA (1998) Official Methods of Analysis of AOAC International. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- IAL (2008) Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brazil.
- Morton RD (2001) Aerobic plate count. In: Compendium of methods for the microbiological examination of foods, APHA - American Public Health Association eds, Washington, USA.
- Cousin MA, Vasavada PC (2001) Psychrotrophic microorganisms. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA - American Public Health Association eds., Washington, USA.
- Beuchat LR, Cousin MA (2001) Yeasts and molds. In: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA - American Public Health Association eds, Washington, USA.
- Sary C, Francisco JGP, Dallabona BR, Macedo REF, Ganeco LN, et al. (2009) Influência da lavagem da carne mecanicamente separada de tilápia sobre a composição e aceitação de seus produtos. *Rev Acad Clénc Agrár Ambient* 7: 423-432.
- Boran G, Karaçam H (2011) Seasonal Changes in Proximate Composition of Some Fish Species from the Black Sea. *Turk J Fish Aquat Sci* 11: 01-05.
- Maia VL, Oliveira CCS, Santiago AP, Cunha FEA, Holanda FCAF, et al. (1999) *Clénc Tecnol Aliment* 19: 433-437.
- Espirito Santo MLP, Vivian V, Mirapalheta T, Carbonera N, Coelho G, et al. (2007) Chemical, physical and microbiological changes in tilapia (*Oreochromis niloticus*) during marination. *Alim Nutr* 18: 1-5.
- Stevanato FB, Almeida VV, Matsushita M, Oliveira CC, Souza NE, et al. (2008) Fatty acids and nutrients in the flour made from tilapia (*Oreochromis niloticus*) heads. *Clénc Tecnol Aliment* 28: 440-443.
- Vidal JMA, Rodrigues MCP, Zapata JFF, Vieira JMM (2011) Concentrado protéico de resíduos da filetagem de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização físico-química e aceitação sensorial. *Rev Clénc Agron* 42: 92-99.
- Stevanato FB, Cottica SM, Petenucci ME, Matsushita M, Souza NE, et al. (2010) Evaluation of processing, preservation and chemical and fatty acid composition of Nile tilapia waste. *J Food Process Preserv* 34: 373-383.

Citation: Monteiro MLG, Mársico ET, Viriato IM, Lima de Souza JM, Conte Júnior CA (2012) Preparation of Added Value Byproducts from the Waste Material of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Processing. J Aquacult Res Dev 3:150 doi:10.4172/2155-9546.1000150

Page 5 of 5

17. Ravichandran S, Kumaravel K, Florence EP (2011) Nutritive composition of some edible fin fishes. Int J Zool Res 7: 241-251.
18. Vidotti RM (2011) Tecnologias para o aproveitamento integral de peixes. In: Curso Técnica de Manejo em Piscicultura Intensiva.
19. Boscolo WR (2003) Farinha de resíduos da Indústria de filetagem de tilápias na alimentação da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus* L.).
20. Vidotti RM, Gonçalves GS (2006) Produção e caracterização de siagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal.
21. Oyelese OA, Odubayo OO (2010) Shelf-life of fishmeal, paste and cake of tilapia niloticus and supplementation of conventional fishmeal with tilapia fishmeal in the diet of *Cirrius gariepinus* fingerlings. J Food Process Preserv 34: 149-163.
22. Rocha JBS (2011) Utilização de tilápias de baixo valor comercial como fonte proteica na formulação de biscoitos e sopas para a merenda escolar.
23. Dale NM, Zumbado M, Gernat AG, Romo G (2004) Nutrient Value of Tilapia Meal. J Appl Poult Res 13: 370-372.
24. Kublitza F (2007) A versatilidade do sal na piscicultura. Panorama da Aquicultura.
25. ANVISA (1999) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 309, de 16 de julho de 1999. Regulamento Técnico referente a Padrões de Identidade e Qualidade para "Água purificada adicionada de sais".
26. ANVISA (2000) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria MS nº 1.469, de 29 de dezembro de 2000. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências.
27. Guimarães FSF, Abud APR, Oliveira SM, Oliveira CC, Cesar B, et al. (2009) Stimulation of lymphocyte anti-melanoma activity by co-cultured macrophages activated by complex homeopathic medication. BMC Cancer 9: 1-12.
28. Nascimento R, Campagnol PCB, Monteiro ES, Polonio MAR (2007) Substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio: influência sobre as características físico-químicas e sensoriais de salsichas. Alim Nutr 18: 297-302.
29. Sandhu KS, Singh N, Kaur M (2004) Characteristics of the different corn types and their grain fractions: physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches. J Food Eng 64: 119-127.
30. Serrano PO, Franco CML (2005) Modificação hidrotérmica annealing e hidrólise enzimática do amido de mandioca. Braz J Food Technol 8: 220-232.
31. Loret C, Meunier V, Frith W J, Fryer P J (2004) Rheological characterization of the gelation behaviour of maltodextrin aqueous solution. Carbohydrate Polymers 57: 153-163.
32. Nelva CRP (2008) Processamento, avaliação nutricional e aceitabilidade de produtos à base de pescado desidratado: sopa e biscoito.
33. TACO (2011) Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. In: Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP eds.), Campinas, São Paulo, Brazil.
34. ICMSF (1986) International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms In Foods, 2: Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications. Blackwell Scientific Publications, London, UK.
35. Franco BDGM, Landgraf M (1996) Microbiologia dos Alimentos. Editora Atheneu, São Paulo, Brazil.
36. ANVISA (1978) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNNPA nº. 12 de 24 de julho de 1978. Normas Técnicas Especiais.
37. Barros CG (2003) Perda da Qualidade do Pescado, Deterioração e Putrefação. Rev Cons Fed Med Vet 2: 59-66.
38. Mello SCRP, Freitas MQ, Clemente SCS, Franco RM, Nogueira EB, et al. (2010) Caracterização química e bacteriológica de poça e surimi obtidos do espinhaço residual da filetagem de tilápia. Cienc Rural 40: 648-653.
39. Samakupa AP, Einarsson H, Eypórsdóttir A (2003) Hygiene Indicators in a fish processing establishment—a case study in a white fish processing establishment. Fisheries Training Programme, The United Nations University, NAMIBIA.
40. Marengoni NG, Pozza MSS, Braga GC, Lazzari DB, Castilha LD, et al. (2009) Caracterização microbiológica, sensorial e centesimal de fishburgers de carne de tilápia mecanicamente separada. Rev Bras Saúde Prod Anim 10:168-176.
41. Carbonera N, Mirapalheta T, Vivian VB, Espírito Santo MLP (2006) Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle no Processamento de Filés Congelados de Tilápia (*Oreochromis niloticus*).
42. Boscolo WR, Felden A (2007) Industrialização de tilápias. GFM Gráfica & Editora, Toledo.
43. Kirschnik PG, Macedo-Viegas EM (2009) Efeito da lavagem e da adição de aditivos sobre a estabilidade de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante estocagem a -18 °C. Cienc Tecnol Aliment 29: 200-206.
44. Nunes IL, Magagnin G, Bertolin TE, Furlong EB (2003) Aroz comercializado na região sul do Brasil: aspectos micotoxicológicos e microscópicos. Cienc Tecnol Aliment 23: 190-194.
45. Tasca ACO, Moura AC (2012) Análise Microbiológica da Farinha de Trigo (*Triticum aestivum* L.) comercializada no município de Cascavel – PR.
46. Ferreira Neto CJ, Figueiredo RMF, Queiroz AJM (2005) Avaliação sensorial e da atividade de água em farinhas de mandioca temperadas. Cienc Agrotec 29: 795-802.

Submit your next manuscript and get advantages of OMICS Group submissions

Unique features:

- User friendly/feasible website-translation of your paper to 50 world's leading languages
- Audio Version of published paper
- Digital articles to share and explore

Special features:

- 200 Open Access Journals
- 15,000 editorial team
- 21 days rapid review process
- Quality and quick editorial, review and publication processing
- Indexing at PubMed (partial), Scopus, DOAJ, EBSCO, Index Copernicus and Google Scholar etc
- Sharing Option: Social Networking Enabled
- Authors, Reviewers and Editors rewarded with online Scientific Credits
- Better discount for your subsequent articles

Submit your manuscript at <http://www.omicsonline.org/submit>

6.2 TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)



Tilápia do Nilo (Fonte: Arquivo pessoal)

6.3 FILÉ DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)



Filés de tilápia do Nilo (Fonte: Arquivo pessoal)

6.4 RESÍDUOS DE CABEÇA E DE CARÇA DE TILÁPIA DO NILO



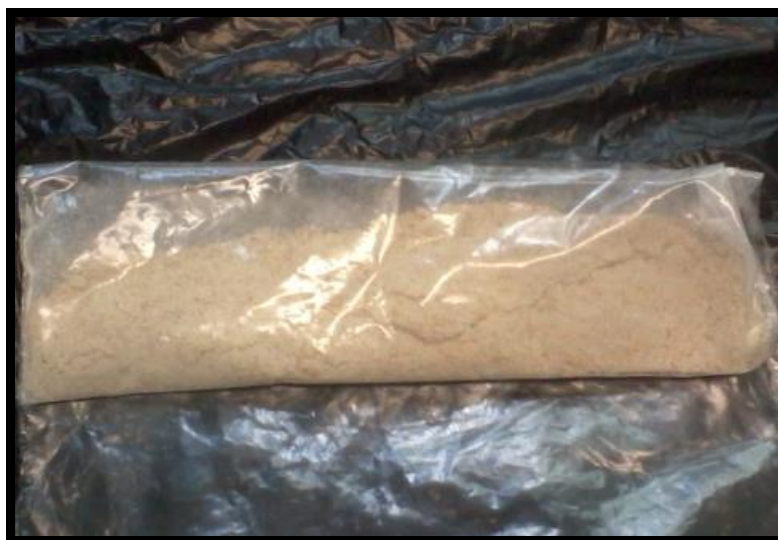
Resíduos de carcaça (esquerda) e cabeça (direita) provenientes do processamento tecnológico da filetagem de tilápia do Nilo (Fonte: Arquivo pessoal)

6.5 FARINHA DE CABEÇA, FARINHA E CARÇAÇA E FARINHA MISTA ELABORADA COM AMBOS OS RESÍDUOS



Farinha de cabeça (a esquerda), farinha de carcaça (centro) e farinha mista elaborada com ambos os resíduos (a direita) (Fonte: Arquivo pessoal)

6.6 SOPA INSTANTÂNEA DE TILÁPIA EM PÓ



Sopa instantanea elaborada a partir de resíduos do processamento de tilápia do Nilo
(Fonte: Arquivo pessoal)

6.7 SOPA INSTANTÂNEA DE TILÁPIA RECONSTITUÍDA COM ÁGUA



Sopa instantanea de tilápia reconstituída com água (Fonte: Arquivo pessoal)

6.8 PRODUTOS REESTRUTURADOS DE TILÁPIA



Produtos reestruturados de tilápia elaborados a partir de resíduos do processamento de tilápia do Nilo (Fonte: Arquivo pessoal)