

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DOS ALIMENTOS**

**Otimização de uma formulação de *fishburgers* de jundiá  
(*Rhamdia quelen*) visando o aproveitamento de  
subprodutos da filetagem e do processamento de frutas**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Vivian Caetano Bochi**

**Santa Maria, RS, Brasil,  
2007**

**Otimização de uma formulação de *fishburgers* de jundiá (*Rhamdia quelen*)  
visando o aproveitamento de subprodutos da filetagem e do processamento  
de frutas**

**por**

**Vivian Caetano Bochi**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**Orientador (a): Prof. Dr. Tatiana Emanuelli**

**Santa Maria, RS, Brasil,**

**2007**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**Otimização de uma formulação de *fishburgers* de jundiá (*Rhamdia quelen*)  
visando o aproveitamento de subprodutos da filetagem e do processamento  
de frutas**

elaborada por  
**Vivian Caetano Bochi**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Tatiana Emanuelli, Dr.**  
(Presidente/Orientador)

---

**Ernesto Hashime Kubota, Dr. (UFSM)**

---

**Márcia Vizzotto, Dr. (EMBRAPA)**

Santa Maria, 23 de fevereiro de 2007.

Às minhas avós,  
Modesta, Cecília e Jucli,  
dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em especial, a Profa. Dra. Tatiana Emanuelli, não somente pela orientação, mas pela amizade, compreensão, apoio nos momentos difíceis e, principalmente, pelos ensinamentos que possibilitaram a realização deste trabalho.

A Jucieli, a Cristiane e ao André sem os quais a realização deste trabalho não seria possível. Agradeço pela dedicação, paciência, por sempre torcerem por mim e, principalmente pela amizade que surgiu da nossa convivência no laboratório.

Ao Caio e a Mariane pela ajuda na conclusão dos meus experimentos.

A Sílvia por tornar possível a realização de parte deste trabalho na UNIPEIXE, pela disposição em nos ajudar e pela cordialidade com que fomos recebidos.

A todos os professores do departamento, em especial, a prof. Neila Richards pelos ensinamentos essenciais no desenvolvimento deste trabalho e disposição com que sempre me recebeu.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), pela oportunidade.

A banca examinadora, composta pelo professor Ernesto Kubota e pela pesquisadora Márcia Vizzotto por aceitarem avaliar o meu trabalho e pelas contribuições que foram feitas que colaboraram para a melhoria da qualidade desta dissertação.

As pessoas que conheci durante todo o tempo que trabalhei nos laboratórios do NIDAL pelo apoio e inesquecíveis momentos de descontração, em especial ao Julcemar, a Roberta, a Ana Paula, a Paula, a Greice, a Taís, a Valéria, a Angélica, a Elveni, a Daniele e a Cristiane.

Ao Carlos Perini Junior pelo seu trabalho na injeção das minhas amostras no CG, sua preocupação e disposição em sempre fazer o melhor.

Ao Rodrigo, a Luciana, a Camila e a Edi Francieli, amigos que mesmo longe, nunca deixaram de me apoiar.

Aos meus inseparáveis amigos Aline, Máisa e Luiz Fernando pelo carinho, compreensão e apoio.

Aos amigos Clauson, Marcelo e Alex pela alegria que vocês passam para as outras pessoas e por todas as vezes que isso me ajudou a esquecer o cansaço e a continuar sempre.

As minhas irmãs, Thaís e Vanessa, pelo amor que nos une e por estarem sempre ao meu lado não medindo esforços para me ajudar.

Aos meus pais, Cândido e Castorina, sem os quais nada seria possível. Obrigada por tudo que vocês fizeram pela nossa família, pela confiança, por acreditarem mais em mim do que eu mesma sou capaz e por aceitarem as minhas escolhas.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

De uma maneira especial, a Deus que é a razão de todas as coisas, pois sem Ele nada existiria.

“Diante de Deus todos somos igualmente sábios  
e igualmente tolos”.

Albert Einstein

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos  
Universidade Federal de Santa Maria

### **OTIMIZAÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO DE *FISHBURGER* DE JUNDIÁ (*RHAMDIA QUELEN*) VISANDO O APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS DA FILETAGEM DO PROCESSAMENTO DE FRUTAS**

AUTOR (A): VIVIAN CAETANO BOCHI

ORIENTADOR (A): TATIANA EMANUELLI

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 23 de fevereiro de 2007.

Este trabalho avaliou o aproveitamento de resíduos resultantes da filetagem e de extratos vegetais de sementes de frutas na otimização de formulações de *fishburgers* de jundiá (*Rhamdia quelen*). Os resíduos da filetagem do jundiá foram processados e obteve-se uma polpa de resíduos da filetagem (PRF) utilizada em diferentes níveis (0-controle, 20, 50, e 80%) para substituir os filés de peixe na formulação de *fishburger*. O teor de gordura aumentou com a utilização de PSF nas formulações ( $p < 0,05$ ). Os *fishburgers* produzidos com 50-80% PRF apresentaram menores valores para as razões de ácidos graxos n-6/n-3 do que os valores obtidos para o controle ( $p < 0,05$ ). A capacidade de retenção de umidade e de retenção de gordura pós-cozimento não foram afetadas pela utilização de PRF, no entanto as formulações com 50% de PRF tiveram os maiores rendimentos pós-cozimento ( $p < 0,05$ ). A análise sensorial revelou que a textura e suculência das formulações não foram alteradas pela utilização de PRF, porém a incorporação de 80% de PRF reduziu a aceitação do produto em relação ao controle ( $p < 0,05$ ). Foram determinados, para extratos de sementes de manga (*Mangifera indica* L.), pêssego (*Prunus persica*), e maracujá (*Passiflora sp.*), o conteúdo fenólico, a atividade antioxidante pelos métodos do DPPH<sup>\*</sup> (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), FRAP (poder antioxidante de redução do ferro) e a capacidade de impedir a oxidação lipídica em um sistema modelo contendo peixe (0,05, 0,1, 0,15 e 0,3 mg de compostos fenólicos/4,4ml de homogeneizado de carne de jundiá). As sementes de manga apresentaram o maior teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em DPPH e pelo método de FRAP. A oxidação lipídica no homogeneizado de carne de peixe submetido ao aquecimento (37°C) por 90 minutos foi impedida pelo extrato das três sementes de frutas em todas as concentrações testadas. O extrato de semente de manga, que apresentou a maior atividade antioxidante *in vitro*, foi escolhido para a avaliação de sua capacidade em impedir a oxidação da uma



formulação de *fishburger* produzida com resíduos da filetagem. Foram preparadas formulações de *fishburger* contendo 50% de resíduos de filetagem e diferentes níveis de extrato de semente de manga (0, 30 e 90 ppm de compostos fenólicos) que foram armazenadas a -10 ou -20 °C. A oxidação lipídica durante o congelamento foi acompanhada determinando-se os teores de dienos conjugados, valor de peróxidos, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e ácidos graxos livres. Todas as medidas de oxidação lipídica foram afetadas pela temperatura e tempo de estocagem. No entanto, ao final de 120 dias, os níveis de TBARS não alcançaram o valor limite para consumo humano. O extrato de semente de manga não apresentou efeito antioxidante contra a peroxidação lipídica nas formulações de *fishburgers* de jundiá. A substituição de filé de jundiá por polpa de resíduos da filetagem pode ser realizada até o nível de 50% na formulação de *fishburger* de jundiá significativas na qualidade sensorial, resultando em produtos com melhor valor nutricional e características pós-cozção, estáveis durante pelo menos 120 dias de congelamento.

Palavras-chave: composição de ácidos graxos; oxidação lipídica; pêssego; maracujá; manga; substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

## ABSTRACT

Master Dissertation  
Post-Graduate Program in Food Technology and Science  
Federal University of Santa Maria

### **OPTIMIZATION OF A SILVER CATFISH FISH (RHAMDIA QUELEN) BURGER FORMULATION AIMING AT USING FILLETING WASTES AND FRUIT SEEDS**

AUTHOR: VIVIAN CAETANO BOCHI

ADVISOR: TATIANA EMANUELLI

Date and Defense place: Santa Maria, 23 de fevereiro de 2007.

This work was aimed at optimizing a formulation of silver catfish fishburgers (*Rhamdia quelen*) using filleting wastes and extract from fruit seeds. The utilization of filleting wastes from silver catfish in the formulation of fishburgers was evaluated by replacing grounded fish fillets with increasing levels (0-control, 20, 50, and 80%) of pulp obtained from filleting wastes (PFW). Fat content of burgers increased with increasing levels of PFW ( $p < 0.05$ ). Burgers with 50-80% PFW had lower n-6/n-3 ratio than control ( $p < 0.05$ ). Fat and moisture retention after cooking were not affected by PFW, while cooking yield increased in burgers with 50% PFW when compared to all other formulations ( $p < 0.05$ ). Texture and juiciness were not affected by PFW. However, burgers containing 80% PFW had lower overall acceptance than controls ( $p < 0.05$ ). Mango (*Mangifera indica* L.), peach (*Prunus persica*), and passion fruit (*Passiflora sp.*) seeds were examined for their total phenolic content, radical scavenging capacity against DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radicals, ferric-reducing antioxidant power (FRAP), and antioxidant activity against lipid oxidation in a fish model system (0.05, 0.1, 0.15, and 0.3 mg phenolic compounds/4.4ml of silver catfish homogenate). Mango seed extract (MSE) showed the highest phenolic content and total antioxidant activity by DPPH and FRAP assays. Lipid oxidation in fish model system (at 37°C during 90 min) was retarded by the three seed extracts at all concentrations tested. MSE that had the highest antioxidant activity in vitro, was also evaluated against lipid oxidation in fishburgers produced from silver catfish filleting wastes. Burger formulations with 50% pulp from filleting wastes were prepared containing MSE (0, 30, and 90 ppm phenolic compounds) and conjugated dienes, peroxide value, tiobarbituric acid reactive substances, and free fatty acids were the oxidation products measured during frozen storage at -10 and -20°C. All lipid damage measurements were affected by the storage time and temperature. However, after 120 days at both

temperatures, TBARS levels of fishburgers did not reach threshold limit for human consumption. MSE had no antioxidant effect against lipid oxidation in silver catfish burgers. Filleting wastes could substitute up to 50% of fish fillets with no changes in sensory acceptance, an improvement of nutritional value, and cooking characteristics, with good lipid stability during at least 120 days of freezing storage.

Key-words: fatty acid composition; lipid oxidation; peach; passion fruit; mango; thiobarbituric acid reactive substances.

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>   | <b>13</b> |
| <b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>   | <b>15</b> |
| 2.1. Aquicultura e processamento de pescados.....   | 15        |
| 2.2. Jundiá ( <i>Rhamdia quelen</i> ).....  | 17        |
| 2.3. Importância Nutricional.....   | 18        |
| 2.4. Estabilidade de pescados congelados.....   | 23        |
| 2.4.1. Oxidação lipídica.....   | 24        |
| 2.4.2. Antioxidantes.....   | 27        |
| 2.4.2.1. Antioxidantes naturais.....  | 29        |
| <b>3. ARTIGOS CIENTÍFICOS.....</b>  | <b>31</b> |
| 3.1. Artigo1:Fish burgers with Silver catfish ( <i>Rhamdia quelen</i> ) filleting wastes..... | 31        |
| 3.2.Artigo2: Antioxidant activity of extract from fruit seeds in a fish food system.....      | 56        |
| <b>4. DISCUSSÃO.....</b>  | <b>80</b> |
| <b>5. CONCLUSÕES.....</b>   | <b>85</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>  | <b>86</b> |
| <b>ANEXO 1 .....</b>  | <b>95</b> |

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O aumento da incidência de doenças relacionadas a hábitos alimentares pouco recomendados e a oferta de uma grande diversidade de produtos de alta qualidade, resultou na modificação do comportamento do atual consumidor de alimentos. Como consequência, o mercado formado por alimentos de fácil preparo, higienicamente seguros, agradáveis sensorialmente e que apresentam um alto valor nutricional encontra-se em expansão (Oetterer, 2002).

Considerando o elevado valor nutricional de pescados, fonte de ácidos graxos poliinsaturados  $\omega$ -3, especialmente o ácido eicosapentanóico (EPA, C20:5 n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA, C20:6 n-6), com comprovados efeitos benéficos ao organismo humano (Horrocks e Yeo, 1999), o desenvolvimento de *fishburgers* e análogos poderia alcançar boa aceitação no mercado consumidor, aumentando o consumo e auxiliando no escoamento da produção.

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é uma espécie de peixe de água doce de distribuição neotropical que vem sendo estudado há alguns anos por vários grupos de pesquisadores no Brasil e em outros países latino-americanos. Esta espécie não apresenta espinhos intramusculares, sendo ideal para a filetagem na indústria, e apresenta excelente aceitação pelo mercado consumidor, tanto para a pesca esportiva quanto para a alimentação (Fracolossi et al., 2002).

Considerando que atualmente, as indústrias de beneficiamento de pescado geram grandes quantidades de resíduos e, devido principalmente à falta de reconhecimento deste recurso como matéria-prima e fonte para diversos subprodutos (Oetterer, 1989 apud Oliveira, 2002), a utilização destes no processamento da carne de peixe possibilitaria a redução do custo e obtenção de um produto com alto valor agregado. Além disso, os resultados da composição química e do perfil lipídico de subprodutos de espécies de origem marinha, indicam que estes resíduos apresentam valor nutricional aproximado à parte comestível de peixes (Bruschi, 2001; Oliveira, 2002).

Uma alternativa para a utilização de resíduos é a elaboração da polpa de peixe ou *minced fish*. O *minced* é a pasta de pescado congelada, produzida através da desossa mecânica e representa a primeira etapa de isolamento ou fracionamento da proteína do pescado para o uso como ingrediente de alimentos. Porém, a estabilidade do produto é baixa devido à liberação de enzimas na carne desintegrada, incorporação de oxigênio e presença de ácidos

graxos insaturados (Oetterer et al., 2006). Sendo assim, a utilização de técnicas no retardo da oxidação lipídica, como o uso de antioxidantes pode ser uma alternativa válida para prolongar a vida de prateleira da polpa de peixe.

A indústria de processamento de frutas gera uma quantidade considerável de resíduos que possuem uma alta demanda biológica de oxigênio representando um sério problema para a sustentabilidade da agricultura (Talcott et al., 2003, Berardini et al., 2005). No entanto, estes subprodutos são ótimas fontes de compostos fenólicos com propriedades antioxidantes, podendo ser utilizados na elaboração de aditivos alimentares (Balasundram et al., 2006).

Considerando o exposto acima, o objetivo deste trabalho foi otimizar formulações de *fishburgers* de jundiá (*Rhamdia quelen*) visando o aproveitamento de subprodutos gerados no seu processo de filetagem, bem como de subprodutos do processamento de frutas (sementes).

Assim, os objetivos específicos foram:

1. Obter uma polpa de resíduos da filetagem de jundiá e avaliar a sua composição.
2. Avaliar a composição centesimal e o perfil lipídico de formulações de *fishburger* com diferentes níveis de polpa obtida de resíduos da filetagem do jundiá.
3. Determinar as mudanças na capacidade de retenção de água, de gordura e no rendimento pós-cocção produzidas pela incorporação de polpa de resíduos da filetagem em *fishburgers*.
4. Avaliar as alterações de cor provocadas pela incorporação de polpa de resíduos da filetagem em *fishburgers*.
5. Avaliar a qualidade sensorial de formulações de *fish burger* com diferentes níveis de polpa obtida de resíduos da filetagem do jundiá.
6. Determinar o conteúdo fenólico e a atividade antioxidante de extratos de sementes de manga (*Mangifera indica* L.), maracujá (*Passiflora sp.*) e pêssego (*Prunus persica*) *in vitro*.
7. Avaliar efeito do extrato de semente de manga sobre a oxidação lipídica de formulações de *fishburger* contendo polpa de resíduos da filetagem durante 120 dias de congelamento.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Aqüicultura e processamento de pescados

A aqüicultura mundial apresentou um expressivo crescimento nos últimos 50 anos com uma produção atual que corresponde a 50% do pescado consumido. Além disso, este setor possui o maior potencial para suprir a demanda de pescados, estimada pelo crescimento populacional mundial (FAO, 2006).

O Brasil está hoje entre os 30 maiores pólos pesqueiros mundiais e apresenta uma grande capacidade de aumento da produção, ainda não explorada (FAO, 2006). Dentre os fatores que são citados como favoráveis ao desenvolvimento da aqüicultura podemos destacar a boa qualidade e disponibilidade da água, o clima tropical bastante favorável e a disponibilidade de ingredientes como grãos de soja e milho para a produção de rações. Aliado a isso, o desenvolvimento de técnicas de manejo de espécies nativas ou exóticas poderia elevar a produção piscícola brasileira (Visentainer, 2003, Oetterer, 2002). No entanto, o índice de consumo de pescado pela população brasileira ainda é muito baixo (6,8 kg *per capita*/ano) e inferior a recomendação da Organização Mundial da Saúde (12 kg *per capita*/ano) (FAO, 2005).

Considerando o aumento da demanda por alimentos de fácil preparo, higienicamente seguros e que ofereçam vantagem do ponto de vista nutricional, a baixa qualidade, pouca diversificação dos produtos a base de pescado e o alto custo são algumas das causas da baixa aceitação e consumo destes produtos (Oetterer, 2002). Sendo assim, a industrialização do pescado e o desenvolvimento de tecnologias que aumentem o aproveitamento dos resíduos de pesca para a redução de custos e obtenção de produtos com alta qualidade nutricional e tecnológica podem auxiliar na mudança desta situação.

A quantidade de resíduo gerado pela indústria pesqueira, bem como suas implicações em problemas sociais, ambientais e econômicos, e a necessidade da reciclagem desse material/resíduo, é citada por diversos autores (Bruschi, 2001; Oliveira, 2002; Arruda, 2004; Kim e Mendis, 2006). Além disso, os resultados da composição química e do perfil lipídico de subprodutos de espécies de origem marinha indicam que esses resíduos apresentam valor nutricional aproximado a parte comestível dos peixes (Bruschi, 2001; Oliveira, 2002).

O resíduo da pesca é atualmente aproveitado na produção de óleo bruto e farinha de peixe para alimentação animal (ração) tendo um baixo valor comercial. Diversos produtos podem ser elaborados a partir dos resíduos gerados pelas indústrias processadoras de pescado,

além dos citados anteriormente, tais como concentrados protéicos, surimis, patês, silagem, *minced* entre outros (Morales-Uclua & Oetterer, 1995; Stori, 2000 apud Oliveira, 2002).

Os novos produtos de pescados, burgers e similares como os *fish fingers*, utilizam o “*minced fish*” ou o “*surimi*” como seu principal ingrediente. A polpa de peixe — *minced fish* — é um produto obtido a partir de uma única espécie ou mistura de espécies de peixes com características sensoriais similares, submetido a processo de separação mecânica, resultando em partículas de músculo esquelético isentas de ossos, vísceras e pele (FAO/WHO, 1995). A separação é feita por meio de pressão exercida por uma cinta de borracha contra a superfície externa de um cilindro metálico perfurado (3-5 mm de diâmetro). O processo de separação mecânica da carne aumenta a incorporação de oxigênio, propiciando o desenvolvimento de alterações no aroma, sabor e textura resultantes principalmente da oxidação lipídica (Undeland et al., 1998) e desnaturação protéica (Benjakul et al., 2005).

Inúmeras pesquisas vêm sendo desenvolvidas visando à diversificação dos produtos de pescado, à utilização de espécies ainda pouco exploradas e ao desenvolvimento de tecnologias que auxiliem na manutenção da qualidade dos produtos desenvolvidos.

Espécies amazônicas de baixo valor comercial e de grande abundância foram utilizadas para a produção de *minced fish* e avaliação da estabilidade química e microbiológica durante congelamento a  $-18^{\circ}\text{C}$  e  $-36^{\circ}\text{C}$  por Jesus et al. (2001). Os autores verificaram uma redução da atividade microbiana durante o congelamento e boa estabilidade química após 150 dias sob congelamento.

Sebben et al. (2000) avaliou a qualidade sensorial e estabilidade ao congelamento de *burgers* de carpa produzidos com polpa lavada e não lavada. Os resultados desse trabalho demonstraram que os hambúrgueres apresentam boa aceitabilidade mesmo após 247 dias de armazenamento. Em outro trabalho foram encontrados maiores escores sensoriais para *fish fingers* e *fishburgers* produzidos com carpa (*Cyprinus carpio*) do que em preparações tradicionais deste peixe para os parâmetros de aparência, cor e sabor, resultando em uma maior aceitação global dos produtos (Sehgal e Sehgal, 2002).

Tokur et al. (2006) estudaram a composição química e o perfil lipídico de *fish fingers* produzidos com polpa de carpa (*Cyprinus carpio*) lavada e não lavada e, avaliaram sua estabilidade após cinco meses a  $-18^{\circ}\text{C}$ . A análise do perfil de ácidos graxos em ambas as formulações revelou que mais de 50% dos ácidos graxos são poliinsaturados. Além disso, ao final dos cinco meses as formulações, foram consideradas pelos autores como aceitáveis química e sensorialmente, apesar de terem sido observadas mudanças significativas nos



escores de aceitação global, no índice de peroxidação lipídica (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) e na solubilidade protéica.

A utilização de embalagens a vácuo (Prentice e Sainz, 2005) e de antioxidantes sintéticos (Khalil e Mansour, 1998) ou naturais (Tang et al., 2001a) são algumas das alternativas utilizadas para prevenir a oxidação em filés de carpa e em empanados de peixe.

Inúmeras pesquisas vêm sendo desenvolvidas nos últimos anos com o propósito de determinar as condições ideais de cultivo e, assim fornecer as informações necessárias para a ampliação da produção de jundiá (*Rhamdia quelen*) (Melo et al., 2002; Coldebella e Radünz Neto, 2002; Meyer e Fracolossi, 2004; Copatti et al., 2005; Lazzari, 2006). Porém, não existem na literatura trabalhos sobre o processamento do jundiá ou o desenvolvimento de produtos alternativos, como *fishburgers* e similares, que viabilizem a utilização de resíduos da filetagem e possibilitem um melhor aproveitamento da carne de jundiá.

## **2.2. Jundiá (*Rhamdia quelen*)**

O Brasil é o principal produtor mundial do jundiá, atingindo o valor de 2.500 toneladas de peixe no ano de 2000 (Baldisserotto, 2005). Sua criação está mais concentrada na região sul, principalmente no Rio Grande do Sul (Copatti et al., 2005; Lazzari et al., 2006). Este peixe apresenta grande potencial para a piscicultura, devido a facilidade de cultivo, rápido crescimento, capacidade de adaptação a uma faixa bastante ampla de temperatura (8 à 30°C), boa conversão alimentar e hábito alimentar onívoro possibilitando a utilização de variadas fontes alimentares na produção de rações (Baldisseroto e Radünz Neto, 2004, Losekann, 2006).

Tecnologicamente, os rendimentos dos diversos produtos gerados a partir do processamento mínimo do jundiá alcançam valores satisfatórios, podendo sofrer variações conforme o tamanho do peixe utilizado e a destreza do manipulador. O rendimento de filé encontrado para os exemplares de aproximadamente 700g é de 34,75% (Carneiro et al., 2003), valores semelhantes aos encontrados para outras espécies de água doce como a Tilápia (34,5%, Souza, 2002). Além disso, a ausência de espinhos intramusculares e a excelente aceitação pelo mercado consumidor, tanto para a pesca esportiva quanto para a alimentação, faz desta espécie ideal para o processamento na indústria (Fracolossi et al., 2002). Apesar dessas características o processamento industrial do jundiá e sua comercialização na forma de filés ainda são bastante reduzidos, sendo este comercializado principalmente como peixe inteiro e/ou eviscerado.

### 2.3. Importância nutricional

O elevado valor nutricional da carne de pescado é um fator que deve ser considerado como um estímulo para o aumento de seu consumo pela população. Variações em características biológicas, fisiológicas e ecológicas do pescado tem influência na composição nutricional da carne de pescado e suas alterações foram estudadas por diversos autores (Fauconneau et al., 1995, Zenebe et al., 1998, Oliveira et al., 2003).

A composição de filés de espécies de água doce geralmente apresenta as seguintes variações em relação ao teor de umidade, proteínas e lipídeos: 70,5-80,9%, 12,7-17,6% e 0,8-15,3%, respectivamente. Menores oscilações são encontradas em relação ao conteúdo mineral (0,96-1,25%) e de carboidratos, com teores inferiores a 1% (Romvári et al., 2002). Em estudos recentes sobre o efeito de proteínas e lipídeos da dieta na composição centesimal de filés de jundiá, os seguintes teores médios foram encontrados 74-76,8%, 20,9-16,4%, 3,6-7,4% e 1,2-1,4% para umidade, proteínas, lipídeos e cinzas, respectivamente (Lazzari et al., 2006, Losekann, 2006). O valor nutricional de *fishburger* e análogos dependerá da espécie de peixe e dos ingredientes utilizados na fabricação do produto e, a utilização de gordura vegetal hidrogenada e carboidratos como coadjuvantes do processo geralmente aumentam o valor calórico final do produto (Oetterer, 2002).

Além da presença de aminoácidos essenciais, como metionina e lisina, a digestibilidade da proteína de pescados é responsável pelo elevado valor biológico, superior ao de outras fontes animais como ovos, leite e carne bovina (Oetterer, 2002, Baldisseroto e Radünz Neto, 2004).

Muitas pesquisas foram realizadas com o propósito de determinar o perfil de ácidos graxos dos peixes e os fatores que influenciam na composição da fração lipídica (San't Anna e Mancini-Filho, 2000, Rasoarahona et al., 2004, Nielsen et al., 2005, Losekann, 2006), devido a presença de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente os da família n-3 (omega-3).

As principais fontes de ácidos graxos n-3, principalmente os ácidos eicosapentanoico (EPA, C20:5 n-3) e docosahexaenoico (DHA, C20:6 n-3) são os peixes de origem marinha, em função destes manterem-se fluidos em baixas temperaturas, contrastando com animais de águas mais quentes, que geralmente apresentam concentrações de ácidos graxos poliinsaturados inferiores aos citados anteriormente. No entanto, algumas espécies de água doce apresentam maiores quantidades de ácidos graxos poliinsaturados n-3, principalmente quando cultivadas em ambiente natural, devido ao fato de suas dietas conterem níveis mais

elevados do mesmo (Suárez-Mahecha et al., 2002). Um estudo sobre a quantidade de EPA e DHA em 17 espécies de água doce brasileiras relatou que na maioria dos peixes examinados são ótimas fontes de ácidos graxos poliinsaturados n-3, representando até 27% dos ácidos graxos em algumas espécies (Andrade et al., 1997).

Os ácidos graxos são frequentemente nomeados em forma abreviada de acordo com suas estruturas químicas e são classificados conforme o número de insaturações em saturados, monoinsaturados e poliinsaturados (Gómez, 2003 – Tabela1). As famílias de ácidos graxos ômega-3 ( $\omega$ -3 ou n-3) e ômega-6 ( $\omega$ -6 ou n-6) consistem em ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs, “polyunsaturated fatty acids”) contendo de 18 a 22 carbonos. A designação de ômega tem relação com a posição da primeira dupla ligação, contando a partir do carbono metílico terminal. Os principais ácidos graxos dessas famílias são o ácido linolênico (C18:3 n-3), precursor dos ácidos eicosapentanoico (EPA, C20:5 n-3) e docosahexaenóico (DHA, C20:6 n-3), e o ácido linoléico (C18:2 n-6), precursor do ácido araquidônico (C20:4 n-6) (Suárez-Mahecha et al., 2002, Fennema, 2000).

Tabela 1 – Nomes dos principais ácidos graxos

| Nome comum                           | Abreviatura      | Nomenclatura                     |
|--------------------------------------|------------------|----------------------------------|
| <b>Ácidos graxos saturados</b>       |                  |                                  |
| Butírico                             | C4:0             | Butanóico                        |
| Capróico                             | C6:0             | Hexanóico                        |
| Caprílico                            | C8:0             | Octanóico                        |
| Cáprico                              | C10:0            | Decanóico                        |
| Láurico                              | C12:0            | Dodecanóico                      |
| Mirístico                            | C14:0            | Tetradecanóico                   |
| Palmítico                            | C16:0            | Hexadecanóico                    |
| Estearico                            | C18:0            | Octadecanóico                    |
| Araquídico                           | C20:0            | Eicosanóico                      |
| Behênico                             | C22:0            | Docosanóico                      |
| <b>Ácidos graxos monoinsaturados</b> |                  |                                  |
| Palmitoléico                         | C16:1, n-7 cis   | 9-hexadecaenóico                 |
| Oléico                               | C18:1, n-9 cis   | 9-octadecaenóico                 |
| Elaídico                             | C18:1, n-9 trans | 9-octadecaenóico                 |
| Gondóico                             | C20:1, n-9 cis   | 11-eicosenóico                   |
| Erúico                               | C22:1, n-9 cis   | 13-docosenóico                   |
| Brassídico                           | C22:1, n-9 trans | 13-docosenóico                   |
| Cetoléico                            | C22:1, n-11 cis  | 11-docosenóico                   |
| Nervônico                            | C24:1, n-9 cis   | 15-tetracosenóico                |
| <b>Ácidos graxos poliinsaturados</b> |                  |                                  |
| Linoléico                            | C18:2, n-6       | 9,12-octadecadienóico            |
| $\alpha$ -Linolênico                 | C18:3, n-3       | 9,12,15-octadecatrienóico        |
| $\gamma$ -Linolênico                 | C18:3, n-6       | 6,9,12-octadecatrienóico         |
| Columbínico                          | C18:3, n-6       | 5,9,12-octadecatrienóico         |
| Araquidônico                         | C20:4, n-6       | 5,8,11,14-Eicosatetraenóico      |
| Timnodônico (EPA)                    | C20:5, n-3       | 5,8,11,14,17- eicosapentaenóico  |
| Clupanodônico (DPA)                  | C22:5, n-3       | 7,10,13,16,19- docosapentaenóico |
| Cervônico (DHA)                      | C22:6, n-3       | 4,7,10,13,16,19-Docosahexaenóico |

Fonte: Linscheer e Vergroesen (1994 ) appud Gómez (2003).

Em mamíferos os ácidos graxos são fisiologicamente importantes porque fazem parte de fosfolipídeos e glicolipídeos de membranas, atuam como modificadores lipófilos de proteínas, são precursores de hormônios e mensageiros intracelulares e são moléculas fornecedoras de energia. Os ácidos graxos podem ser sintetizados pelo organismo através do sistema enzimático ácido graxo sintase, elongases e dessaturases (Figura 1). No entanto, os mamíferos não possuem enzimas capazes de sintetizar os ácidos linolênico e linoléico, sendo considerados ácidos graxos essenciais e devendo ser supridos pela dieta. Uma vez ingeridos esses ácidos graxos sofrem a ação de elongases e dessaturases dando origem aos ácidos graxos de cadeia longa n-3 e n-6 citados anteriormente (Stryer, 1994).

A capacidade de formação de EPA e DHA é limitada em humanos, predominando os ácidos graxos n-6 e n-9. Isto ocorre porque, o mesmo sistema de alongação e dessaturação é responsável pela formação dos ácidos graxos das séries n-3 (EPA, DHA) e n-6 (araquidônico) e, uma alta ingestão de ácidos graxos n-6 em relação a n-3 resultará na depleção de ácidos graxos EPA e DHA como resultado da competição enzimática entre esses dois grupos. Diversos estudos têm evidenciado os efeitos benéficos desses ácidos graxos essenciais para a saúde humana e, mais relevante que isto, uma proporção adequada entre PUFA n-6/n-3. A Organização Mundial da Saúde e outras associações, como a Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, e o Departamento de Saúde do Reino Unido recomendam que a razão de ácidos graxos poliinsaturados n-6/n-3 esteja entre 3:1 e 4:1 (Horrocks e Yeo, 1999 e Suarez-Mahecha et al., 2002). No entanto, as razões estimadas para populações ocidentais são bem maiores do que as recomendadas, com valores entre 20:1 e 25:1 de ácidos poliinsaturados n-6/n-3 (Simopoulos, 1999).

Recomendações sobre o consumo diário de ácidos graxos essenciais, saturados e trans foi um dos principais assuntos debatidos no Workshop realizado no Instituto Nacional da Saúde em Bethesda (Maryland, USA). Neste encontro ficou estabelecida a forte relação entre a diminuição da razão n-6/n-3 com os benefícios relacionados ao sistema cardiovascular e bom desenvolvimento cerebral de recém-nascidos (Simopoulos et al., 2000).



O consumo de quantidades maiores que as recomendadas do ácido linoléico e araquidônico resultam na produção excessiva de eicosanóides e peróxidos da série dos leucotrienos B<sub>4</sub>, prostaglandinas E<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) e tromboxanos A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) que possuem efeitos de indução do processo inflamatório, vasoconstrição e agregação plaquetária. No entanto, a ingestão de EPA e DHA a partir de peixes ou óleos de peixes levará a um aumento na produção de tromboxanos A<sub>3</sub> (TXA<sub>3</sub>) e leucotrienos B<sub>5</sub> que possuem menor efeito vasoconstritor e agregador plaquetário que os eicosanóides produzidos pelo ácido araquidônico. Além disso, a partir de ácidos graxos n-3 são produzidas também prostaciclina I<sub>3</sub> (PGI<sub>3</sub>) que possuem efeitos vasodilatadores e antitrombóticos (Simopoulos, 1999).

O ácido eicosapentanoico (EPA, C20:5 n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA, C22:6 n-6) apresentam efeitos redutores sobre os teores de triglicerídios e colesterol sanguíneo, reduzindo conseqüentemente os riscos de doenças cardiovasculares como arteriosclerose e infarto do miocárdio (Rivellese et al., 2003, Liu et al., 2003). Além disso, os ácidos graxos da família n-3 são essenciais para o desenvolvimento das células nervosas (neurônios e células gliais) durante a formação do feto e, sua carência durante a gestação acarreta em trágicas conseqüências para a vida extra-uterina futura (Horrocks e Yeo, 1999).

#### **2.4. Estabilidade de pescados congelados**

A perda da qualidade em pescados inicia-se logo após seu abate como resultado de diversas e complexas reações físicas, químicas, microbiológicas e histológicas que modificam suas características sensoriais e nutricionais. A velocidade com que cada uma dessas alterações ocorre irá depender de fatores que podem ser controlados durante o processamento e/ou conservação de pescados (Santos-Yap, 1995).

A temperatura é um dos fatores mais importantes no controle das alterações em pescados, sendo que a refrigeração e/ou congelamento são freqüentemente aplicados para diminuir as alterações provocadas por microrganismos e por enzimas autolíticas (Santos-Yap, 1995).

Em pescados refrigerados, a autólise e a proliferação de microrganismos são os principais fatores de declínio da qualidade. Sendo assim, a avaliação da estabilidade de peixes refrigerados está focalizada na determinação de alterações causadas principalmente por microrganismos, formação de aminas voláteis, degradação de nucleotídeos e proteínas (Aubourg, 1999).

Considerando que a ação de baixas temperaturas previne o desenvolvimento de microrganismos e que a contagem inicial é reduzida durante o congelamento, a desnaturação protéica, a hidrólise e oxidação dos lipídeos são as principais reações de deterioração de pescados congelados. Alterações nutricionais e, principalmente sensoriais são resultantes da presença dos produtos finais dessas reações. Sendo assim, a rejeição de alimentos susceptíveis a oxidação, entre eles os pescados congelados, se dá com o aparecimento de sabores de *ranço* e mudanças na textura (Erickson, 1997, Aubourg et al.,1998, Tokur et al.,2006).

#### 2.4.1. Oxidação lipídica

Os lipídeos além de apresentarem um papel importante com relação às propriedades organolépticas dos alimentos (sabor, odor, cor e textura), são importantes fontes de energia, ácidos graxos essenciais e vitaminas. A oxidação dos lipídeos pelo ataque de radicais livres pode ser muito prejudicial devido à velocidade com que ocorre e pelas alterações observadas nos estágios finais da oxidação levando a rejeição do produto (Erickson, 1997).

Entre outros fatores, o teor de lipídeos e a composição de ácidos graxos são os principais determinantes da velocidade de oxidação e do aparecimento de compostos de sabor e odor desagradável em pescados congelados. Geralmente, a extensão da reação de oxidação em peixes gordos (>8,0g %) tende a ser maior que em peixe magros (2,0-3,0 g %) e o número de insaturações torna a gordura mais suscetível ao ataque de radicais livres (Santos-Yap, 1995). O jundiá apresenta valores médios de lipídeos iguais a 6% e, além disso, aproximadamente 24% desses lipídeos são compostos por ácidos graxos poliinsaturados e 44% ácidos graxos monoinsaturados (Losekann, 2006).

A molécula de um triglicérideo apresenta dois pontos de maior susceptibilidade a alterações oxidativas. O primeiro é a ligação éster entre a carbonila do ácido graxo e a hidroxila do glicerol. Neste ponto, por ação de lipases e da fosfolipase A do músculo pode ocorrer a liberação de ácidos graxos durante o congelamento de pescados (Fenema, 2000, Regitano-d'Arce, 2006). A hidrólise de triglicérideos, além de promover uma aceleração no processo de oxidação, pode resultar em alterações na textura por promover a desnaturação protéica em proteínas miofibrilares (Santos-Yap, 1995).

Em pescados, a metodologia mais comumente utilizada na determinação de ácidos graxos livres consiste na determinação colorimétrica da formação de complexos acetato cúprico/piridina (Lowry e Tinsley, 1976). Os resultados são expressos através de uma curva construída com ácido oléico.



As insaturações presentes em ácidos graxos que compõem a molécula de triglicerídeos são o segundo ponto de maior reatividade da molécula, susceptível ao ataque do oxigênio. A auto-oxidação de lipídeos em alimentos envolve uma reação em cadeia, que é geralmente iniciada pela formação de radicais livres através de exposição do alimento à luz, ao calor produzido em tratamentos térmicos, à radiação ionizante, a íons metálicos ou ainda pela ação de enzimas (Regitano-d'Arce, 2006, Erickson e Hung, 1997).

Os radicais livres formados durante a fase de iniciação da oxidação lipídica abstraem um hidrogênio de ligações duplas dos ácidos graxos insaturados, preferencialmente de ácidos graxos poliinsaturados, resultando na transformação desses ácidos graxos em radicais livres centrados em carbono ( $R^\bullet$ ). Esses radicais, por sua vez, reagem com o oxigênio molecular dando origem aos lipoperóxidos ( $ROO^\bullet$ ), compostos com alto potencial redutor (1000 mV). Os lipoperóxidos aceleram a reação de oxidação reagindo com outras moléculas de ácidos graxos adjacentes dando origem a hidroperóxidos ( $ROOH$ ) e novos radicais livres ( $R^\bullet$ ). Os hidroperóxidos formados podem sofrer isomerização geométrica dando lugar aos isômeros *trans* (Choe e Min, 2005, Fenema, 2000).

Em ácidos graxos poliinsaturados, os radicais formados ( $R^\bullet$ ) apresentam um deslocamento da dupla ligação devido à estabilização por ressonância, dando origem a hidroperóxidos isoméricos com grupos de dienos conjugados (Fenema, 2000). O teor de dienos conjugados pode ser determinado através de absorção de luz ultravioleta a 233 nm (Recknagel & Glend, 1984). O surgimento de compostos de oxidação primária em pescados, acompanhado através da determinação dienos conjugados, é discutido em muitos trabalhos (Aubourg et al., 1998, Undeland et al., 1998, Pazos et al., 2005, Sánchez-Alonso et al., 2007).

A força de ligação do hidrogênio em grupos metilênicos duplamente alílicos é menor do que naqueles com apenas uma insaturação. A força de ligação do hidrogênio no ácido linoléico é de 52 Kcal/mol, enquanto que para o ácido oléico é de 77 Kcal/mol. Por este motivo, as gorduras poliinsaturadas apresentam menor estabilidade à oxidação que as monoinsaturadas (Regitano-d'Arce, 2006).

Durante a reação de oxidação tanto a formação quanto a decomposição dos hidroperóxidos está ocorrendo. Nas fases iniciais a velocidade de formação é maior que a de decomposição porém, com a diminuição da quantidade de substratos oxidáveis a velocidade de formação diminui e, os hidroperóxidos e seus produtos de degradação sofrem condensação formando dímeros e polímeros. Estes compostos são voláteis e apresentam sabor e odor desagradável, dando origem ao odor de ranço característico de produtos oxidados. A

formação de aldeídos, cetonas, álcoois, ácidos e hidrocarbonetos de cadeia curta caracterizam a etapa final de oxidação em alimentos (Fennema, 2000, Choe e Min, 2005).

Tanto os níveis de peróxidos, como dos produtos finais da degradação de lipídeos insaturados em alimentos podem ser determinados durante a estocagem sob congelamento de alimentos. As metodologias mais utilizadas para a determinação de peróxidos em pescados baseiam-se na oxidação do ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) a íon férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ) por ação dos peróxidos, o qual é dosado por colorimetria sob a forma de tiocianato férrico (Chapman e Mackay, 1949). Existem outros métodos bastante utilizados para a determinação do índice de peróxidos, dentre eles podemos citar o método iodométrico de Lea (LEA), que mede o iodo produzido a partir da decomposição do iodeto de potássio; e a quimiluminescência, que mede a quantidade de energia produzida pela transição dos elétrons do estado excitado ao estado fundamental, no decurso da formação de peróxidos (Silva et al., 1999).

Os compostos formados pela decomposição de hidroperóxidos, produtos secundários da oxidação de lipídeos, são geralmente avaliados pela quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA). Essa reação determina principalmente o malondialdeído (MDA) que reage com o TBA produzindo um composto de coloração vermelha, que pode ser medido espectrofotometricamente a 534 nm. A quantificação geralmente é feita com os padrões 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) ou 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) que no meio ácido do teste liberam MDA (Buege e Aust, 1979). Outra metodologia bastante utilizada para a determinação de compostos voláteis resultantes da decomposição de peróxidos é a identificação de hidrocarbonetos (pentano, n-hexano, etano), aldeídos (pentanal, hexanal, hexenal, 2-octenal, 2-nonenal), cetonas (1,5-octadien-3-ona, 1-octen-3-ona) ou ácidos (ácido fórmico) por cromatografia gasosa de injeção direta ou *headspace* (Silva et al., 1999).

Tanto a determinação do índice de peróxidos (IP) como a determinação de substâncias reativa ao TBA é metodologias bastante empregadas na avaliação da estabilidade oxidativa de pescados e produtos de pescados (Aubourg, 1998, Siddaiah et al., 2001, Tokur et al., 2004, Yerlikaya et al., 2005, Pazos et al., 2006). Geralmente, a diminuição do IP é acompanhada por um aumento na formação de aldeídos identificados pelo teste do TBA como um resultado do envolvimento dos compostos primários da oxidação na formação dos produtos finais da reação.

#### 2.4.2. Antioxidantes

As alterações provocadas devido à oxidação de ácidos graxos poliinsaturados são relevantes não somente em relação à qualidade de alimentos congelados, mas também, sob o enfoque econômico, visto que limitam a vida de prateleira destes produtos. Diversas tecnologias foram desenvolvidas com o objetivo de evitar essas alterações durante processamento e armazenamento de alimentos. Dentre as medidas que permitem limitar o fenômeno de oxidação, o uso de embalagens a vácuo (Prentice-Sainz, 2005), atmosfera modificada (Lopes et al., 2004), antioxidantes (Tang et al., 2001b, Benjakul et al., 2005, Pazos et al. 2006), ou ainda a combinação desses métodos (Khalil e Mansour, 2001), já foram testados na preservação de pescados.

Antioxidantes são substâncias que em pequenas concentrações são capazes de retardar o início e/ou impedir a progressão das reações de oxidação em alimentos sem ocasionar mudanças nutricionais ou sensoriais. Em sistemas alimentares, existem antioxidantes endógenos que conferem certo grau de proteção contra a oxidação. No entanto, estes antioxidantes são perdidos durante o processamento e armazenamento sendo necessária a adição de antioxidantes exógenos ou adoção de outras técnicas de proteção contra a oxidação de lipídeos (Madhavi et al., 1995). Pazos et al. (2005) avaliou a capacidade de procianidinas provenientes de subprodutos da uva, na proteção de sistemas antioxidantes endógenos ( $\alpha$ -tocoferol, ubiquinona e glutatona) de cavala (*Scomber scombrus*). A interrupção da reação em cadeia de oxidação lipídica pelos antioxidantes em alimentos não está completamente elucidada, principalmente sob certos aspectos, como a interação entre constituintes do meio. O emprego de antioxidantes em formulações é muitas vezes empírico, de tal modo que a garantia de sua eficácia nem sempre existe (Silva et al., 1999).

Geralmente, os antioxidantes utilizados em alimentos atuam em uma primeira linha de defesa, impedindo a geração de espécies reativas ou através da retirada das mesmas de forma a reduzir a interação com substratos oxidáveis, sendo classificados como antioxidantes de ação primária. Além disso, a ação antioxidante pode ocorrer através do seqüestro de radicais intermediários (ex. peroxil ou alcoxil), bloqueando a etapa de propagação da reação em cadeia (chain breaking). Os compostos antioxidantes formados após a neutralização de radicais livres não são capazes de oxidar outras moléculas de lipídeos e podem formar complexos com lipoperóxidos impedindo as reações de propagação da oxidação (Erickson e Hung, 1997, Madhavi et al., 1995).

Os principais antioxidantes sintéticos utilizados em alimentos são os fenóis com várias substituições no anel como o butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT) e a terc

butilhidroquinona (TBHQ). Estes compostos são excelentes doadores de elétrons ou de hidrogênio e, além disso, seus radicais intermediários são relativamente estáveis devido à deslocação por ressonância e a falta de posições moleculares apropriadas para serem atacadas pelo oxigênio molecular. No entanto, apesar destes compostos serem efetivos em baixas doses e apresentarem baixo custo de produção, sua substituição por compostos naturais é proposta em diversas pesquisas (He e Shahidi, 1997, Tang et al. 2001b, Rey et al., 2005, Sebranek et al., 2005, Pazos et al., 2005), devido à existência de efeitos tóxicos relacionado a antioxidantes sintéticos.

A avaliação do grau de eficácia de sistemas antioxidantes em modelos alimentares pode ser verificada através das metodologias de determinação da estabilidade oxidativa, citadas anteriormente. A capacidade antioxidante é representada pelo aumento do tempo de indução ou retardo na velocidade de formação dos produtos de oxidação (Silva et al., 1999).

Diversas metodologias são utilizadas na determinação direta da capacidade antioxidante total por colorimetria, sendo que as mais empregadas atualmente baseiam-se na descoloração de radicais estáveis pela ação “*scavenger*” de antioxidantes. O ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS<sup>•+</sup>) e o 1,1-difenil-2-picrilidrazil (DPPH<sup>•</sup>) são os radicais empregados nessas metodologias e, sua redução por antioxidantes (A) (ABTS<sup>•+</sup> ou DPPH<sup>•</sup> + A → ABTS-H ou DPPH-H + A) é responsável pela diminuição da absorbância a 734 nm ou 515 nm, respectivamente. O potencial antioxidante de redução do ferro (FRAP, ferric reducing power) é outra medida bastante utilizada e baseia-se na capacidade dos antioxidantes em reduzir ferro (Fe<sup>3+</sup>) a Fe<sup>2+</sup>. Em condições ácidas, o íon Fe<sup>2+</sup> forma um complexo de coloração amarela com 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (Fe<sup>2+</sup>- TPTZ) medido em 593 nm (Huang et al., 2005).

#### 2.4.2.1. *Antioxidantes Naturais*

Os compostos antioxidantes naturais estão presentes em sementes, frutas, folhas e raízes. Recentes pesquisas têm proposto o isolamento de compostos fenólicos de subprodutos agroindustriais visando seu reaproveitamento como antioxidantes e, conseqüentemente, a diminuição do impacto ambiental resultante do processamento industrial. Ácidos fenólicos, flavonóides e taninos são os principais compostos fenólicos encontrados em fontes vegetais. A atividade antioxidante destes compostos pode ser explicada pela capacidade de doar elétrons ou átomos de hidrogênio, sem perder sua estabilidade ou, ainda, através da quelação de metais impedindo sua atividade catalítica (Balasundran et al., 2006).

A manga (*Mangífera indica*), espécie originária da Ásia, atualmente é produzida em mais de 100 países, sendo a maior parte em países em desenvolvimento, como Índia, Paquistão, México, Brasil e China (Pizzol et al., 1998 apud Perosa e Pierre, 2002). Considerando que a pele e sementes de manga representam cerca de 7-24% e 9-40% do total do peso da fruta, respectivamente, pesquisas avaliando o teor de fenólicos totais e a capacidade antioxidante nestes subprodutos foram realizadas (Berardine et al., 2005, Soong e Barlow, 2004, Soong e Barlow, 2006).

Soong e Barlow (2004) relataram que a capacidade antioxidante e o teor de fenólicos totais presentes na amêndoa da semente de manga são superiores ao extraído da polpa da fruta e, sugerem que este subproduto poderia ser uma boa fonte antioxidantes para alimentos. O ácido gálico e elágico são os principais compostos fenólicos já identificados na amêndoa da semente (Soong e Barlow, 2006).

O maracujá é uma fruta tropical disponível praticamente durante todo o ano e, é considerada uma fruta exótica e atraente. Geralmente é utilizada para a produção de sucos, representando 30% do peso da fruta. A produção mundial em 2001 foi igual a 780.000 toneladas, sendo que o Brasil e o Equador representaram 70% do mercado (Frei, 2001 apud Talcott et al., 2003). Não existem pesquisas que avaliem o teor de fenólicos e a capacidade antioxidante dos resíduos gerados após o processamento desta fruta. No entanto, a avaliação da atividade antioxidante e do teor e composição de compostos fenólicos presentes no suco da fruta já foram realizados e indicaram a presença de diversos compostos fitoquímicos com propriedades antioxidantes (Talcott et al., 2003)

O pêssego é uma fruta de clima temperado cuja produção brasileira foi igual a 240.000 toneladas em 2005 (FAOSTAT, 2007). O teor de compostos fenólicos na polpa submetida a processo de desidratação (Rababah et al., 2005) e em diferentes cultivares de pêssego (Gil et

al., 2002) foram avaliados e uma alta correlação da concentração de fenólicos com a atividade antioxidante foi relatada. Estudos sobre a presença de compostos fenólicos nas outras partes do fruto e sua atividade antioxidante não foram encontrados na literatura utilizada.

### 3. ARTIGOS CIENTÍFICOS

#### 3.1. Artigo 1:

#### **Fishburgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting wastes**

Este artigo está em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à *Bioresource Technology*<sup>\*</sup>.

---

<sup>1</sup>O artigo foi formatado conforme as normas exigidas pela revista (Anexo 1).

## **Fishburgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting wastes**

Vivian C. Bochi<sup>a</sup>, Jucieli Weber<sup>a</sup>, Cristiane P. Ribeiro<sup>b</sup>, André de M. Victório<sup>b</sup>, Tatiana Emanuelli<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil  
<sup>b</sup>Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL), Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

---

\* Corresponding author. Tel.: +55 55 3220 8547; fax: +55 55 3220 8353.

*E-mail address:* [tatiemanuelli@smail.ufsm.br](mailto:tatiemanuelli@smail.ufsm.br) (T. Emanuelli).



**Abstract**

The utilization of filleting wastes from silver catfish in the formulation of fishburgers was evaluated by replacing grounded fish fillets with increasing levels (0-control, 20, 50, and 80%) of pulp obtained from filleting wastes (PFW). Fat content of burgers increased with increasing levels of PFW ( $p>0.05$ ). Burgers with 50-80% PFW had lower n-6/n-3 ratio than control ( $p<0.05$ ). Fat and moisture retention after cooking were not affected by PFW, while cooking yield increased in burgers with 50% PFW when compared to all other formulations ( $p<0.05$ ). Texture and juiciness were not affected by PFW. However, burgers containing 80% PFW had lower overall acceptance than controls ( $p<0.05$ ). Results indicated that production of fishburgers may be a valuable alternative for wastes from silver catfish filleting. Filleting wastes could substitute up to 50% of fish fillets with no changes in sensory acceptance and an improvement of nutritional value and cooking characteristics.

Keywords: Fatty acids, chemical composition, sensory analysis, CIELab, cooking characteristics.

## 1. Introduction

World aquaculture had a high growth during the last fifty years. Production increased from less than a million tones in the early 1950s to 59.4 million tones by 2004 corresponding to almost 50 percent of the world's food fish. Hence, aquaculture is perceived as having the greatest potential to meet the growing demand for aquatic food (FAO, 2006). Brazil is one of the thirty countries with the highest aquaculture production. However, brazilian annual fish consumption is one of the lowest 6.8 kg per capita (FAO, 2005). This probably occurs due to the low quality and variety of fish food products available in Brazil, and also high cost (Oetterer, 2002).

Increase of civilization or socioeconomic factors like the increasing number of working women observed in the last years increased consumer's preference for ready-to-eat foods. Thus, many efforts have been made to improve the quality and stability of these foods and those made from fish are becoming very popular (minced, burgers, fish fingers, marinated products, etc.) (Cakli, 2005, Koüse et al., 2006, Sebben et al., 2000, Yerlikaya et al., 2004). Fish patties and fingers were suggested as convenience products from carp and they were preferred to traditional preparations of this fish (Sehgal and Sehgal, 2002)

Silver catfish (*Rhamdia quelen*, Heptapteridae) is an omnivorous freshwater fish that is found from southern Mexico to central Argentina. The husbandry of this species is spreading in Brazil, Uruguay, and Argentina (Gomes et al., 2000). This species has attracted great interest in southern Brazil due to its resistance to handling, fast growth even in the winter months, and good feed efficiency. The absence of intramuscular bones and good acceptance by consumers are some characteristics that could facilitate the industrial filleting process of silver catfish (Fracalossi et al., 2002).

In recent years many researches have been developed for determining the best cultivation conditions supporting the increase of silver catfish production (Coldebella e Radünz Neto, 2002; Melo et al., 2002; Meyer e Fracalossi, 2004; Copatti et al., 2005; Lazzari et al., 2006). However, to the best of our knowledge researches about the use of silver catfish fillets and filleting wastes in processed fish products like burgers or patties are lacking. The objective of the present work was to evaluate the effect of increasing levels of pulp obtained from filleting wastes on nutritional, cooking, and sensory quality of fishburgers produced from silver catfish fillets.

## **2. Material and methods**

### *2.1. Raw material*

Fresh silver catfish (*Rhamdia quelen*) ( $800 \pm 200$ g) were obtained from local market at Santa Maria city (RS, Brazil) in may 2006. After purchasing, fish were transferred to the laboratory in bags. On arrival at the laboratory, they were washed in cold water with 5 ppm chlorine, beheaded, gutted, and filleted. The yield of fish flesh achieved by hand-filleting was 25.7%. Abdominal muscle and backbone without fins were considered as wastes of the filleting process (19.79% of yield). Both fillets and wastes were washed in cold water containing 5 ppm of chlorine and refrigerated ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) for up to 24 hours until burger formulation.

### *2.2. Burger formulation*

Three independent replicates were made for each fishburger formulation in a meat pilot plant (Department of Alimentary Technology and Science, UFSM). Filleting wastes were passed twice through a meat grinder fitted with a 2 mm plate to obtain fish pulp without visible fishbone (75% of yield). Fish fillets were grounded with a 5 mm plate (89.3% of

yield). Formulation of control fishburgers (no pulp from filleting wastes) was composed of 88 g silver catfish grounded fillet and 12 g textured soy protein (previously hydrated 1:2 w/v in tap water) for a 100 g batter. Hydrogenated vegetable fat (5%), ice slurry (10%), wheat flour (5%), salt (1.25 %), white pepper powder (0.04%), onion powder (0.1%), garlic powder (0.1%), coriander powder (0.2%), monosodium glutamate (0.5%), sodium ascorbate (0.3%), sodium tripolyphosphate (0.3%), and sorbitol (4%) were used as ingredients. Based on control formulation, three other formulations were made by replacing grounded fish fillets with fish pulp from filleting wastes at different proportions (20, 50, and 80%). All formulations were kneaded by hand until homogenous dough was obtained. Portions of 60 g were shaped in a circular mould (9 cm diameter), packaged in low-density polyethylene bags, and stored inside plastic boxes at – 20°C until required for analysis.

### *2.3. Chemical analysis*

Moisture was determined by the weight loss after 4 hours at 60°C in an assisted air circulation oven, followed by 8 hours at 105°C (AOAC, 1995). Ash content was determined at 550°C (method 923.03) according to AOAC (1995). Crude protein (N x 6.25) was determined by the microKjeldahl procedure (method 960.52) of the AOAC (1995). Fat was extracted using chloroform and methanol as described by Bligh and Dyer (1959) and used for determination of fat content and fatty acid profile. To prevent lipid oxidation during and after extraction, 0.02% butyl hydroxy toluene was added to the chloroform used. All assays were performed in raw and cooked fishburgers, as well as in the fish pulps obtained from filleting wastes. A silver catfish pulp from filleting wastes was also obtained using an industrial fish deboning machine (High tech, HT 250, Chapecó city, SC, Brazil) in a fish processing plant (Unipeixe, Ajuricaba, RS, Brazil) and was analyzed for comparison purposes. Burgers were cooked in a preheated Black & Decker grill model G48, with thermostat set at 350°C, during

10 minutes (5 min in each side). The average core temperature at the end of the cooking process was around 80°C.

#### 2.4. Fatty acid methyl esters (FAMES)

Aliquots (2-3 ml) of chloroform-lipid extract from Bligh and Dyer (1959) were evaporated at 50°C using a vacuum pump. Fat was saponified in methanolic KOH solutions and then esterified in methanolic sulfuric acid solution as described by Hartmann and Lago (1973). Methylated samples were analyzed using an Agilent Technologies gas chromatograph (HP 6890) fitted with a capillary column DB-23 (50% cyanopropyl-methylpolysiloxane, 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm) and flame ionization detection. The temperature of the injector port and the detector was set at 250°C, and the carrier gas was nitrogen (0.6 ml/min). After injection (1 µl, split ratio 50:1), the oven temperature was hold at 120 °C for 5 min, increased to 240 °C at a rate of 4°C min<sup>-1</sup>, and hold at this temperature for 10 min. Results were expressed as percentage of total area of the identified fatty acids.

#### 2.5. Cooking characteristics

Cooking yield, fat retention, and moisture retention were determined as described by Alesson-Carbonell et al. (2005). Weight of fishburgers were measured before and after cooking process in six fishburgers of each formulation. Cooking process was the same used for chemical analysis. Cooking characteristics were calculated as follows:

$$\text{cooking yield (\%)} = \frac{\text{cooked weight} \times 100}{\text{uncooked weight}}$$

$$\text{Fat retention (\%)} = \frac{\text{cooked weight} \times \% \text{fat in cooked burger}}{\text{raw weight} \times \% \text{fat in raw burger}} \times 100$$

$$\text{Moisture retention (\%)} = \frac{\text{cooked weight} \times \% \text{moisture in cooked burger}}{\text{raw weight} \times \% \text{moisture in raw burger}} \times 100$$

### 2.6. Color measurement

Color measurements of crude and cooked samples were made with a colorimeter (Minolta Chromameter, CR-300, Osaka, Japan), which measures the reflectance of the sample in comparison to a standard calibration plate (number 15233011) using the CIE Lab color scale (Commission Internationale de l'Eclairage, Vienna, Austria, 1976). The standard illuminant used was D65 and 10° supplementary standard observer. The measured color parameters were  $L^*$  (lightness),  $a^*$  (redness),  $b^*$  (yellowness), hue angle [ $\tan^{-1}(b^*/a^*)$ ] and chroma [ $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ ]. The chroma is an expression of the saturation or intensity and clarity of the color. Hue angle, which is the observable color, is defined as starting at the  $+a^*$  axis and is expressed in degrees; 0° would be  $+a^*$  (red), 90° would be  $+b^*$  (yellow), 180° would be  $-a^*$  (green), and 270° would be  $-b^*$  (blue). Each sample was analyzed four times after turning 90° from the previous reading.

### 2.7. Sensory evaluation

Panelists were selected by a questionnaire for determining their interest in participating and possible factors of exclusion like allergic problems, smoking habit and others. Training sections for development of unique concern about the select parameters studied were made. A triangular test was applied after training process for exclusion of non-sensible panelists. Twelve trained panelists were selected for sensory evaluation of cooked fishburgers. Each sample was cooked as described in chemical analyses, codified, and randomly offered to the panelists at similar amount and temperature. All formulations were analyzed with a descriptive test according to Brazilian Association of Technical Rules (NBR

14140, ABNT, 1995). Sensory attributes evaluated were texture (1, very soft; 5, very firm) and juiciness (1, very juicy; 5, very dry) using a five-point hedonic scale. Unsalted crackers and room temperature water were provided to clean the palate between samples.

Overall acceptability was evaluated using an ordering test that was carried out with non-trained panelists. Analyses followed the methodology described by Meilgaard et al. (1991). Panelists (34) received four samples of fishburgers (0, 20, 50, and 80% filleting waste pulp) and were asked to order samples according to the increase of overall acceptability, so that the most preferred sample received the highest score.

### *2.8. Statistical analysis*

All measurements were made in duplicate and the results are means of three independent experiments. Conventional statistical methods were used to calculate means and standard errors. Proximate composition, fatty acid composition, and color parameters data were evaluated using two-way analysis of variance (ANOVA) for (4 formulations x 2 cooking states), while cooking parameters and sensory attributes were evaluated by one-way ANOVA. Post hoc comparisons were made using Tukey's test ( $p < 0.05$ ). Statistical analyses were carried out using Statistica 6.0 (Copyright© Stat Soft, Inc 1984-2001). Results of the ordering test analysis were evaluated based on the Newell and Mac Farlane's table (Dutcosky, 1996).

## **3. Results and discussion**

### *3.1. Chemical composition*

Proximate composition of fishburgers is shown in Table 1. A significant decrease of moisture content was observed due to the cooking process. This moisture loss caused an increase of the other nutrients in cooked burgers. No differences were observed in moisture,

ash, or protein content among the different fishburger formulations either before or after the cooking process.

The raw fishburgers formulated with 50 and 80% filleting waste pulp had significantly higher fat content than control burgers ( $p < 0.05$ ). However, after cooking only fishburger with 80% filleting waste pulp had higher fat content when compared to the other burgers ( $p < 0.05$ ). Chemical composition is affected by the region of the body fish used for the determinations. Usually abdominal and caudal regions have the highest concentration of fat (Contreras-Guzman, 1994). This can be the reason for the increase of fat in the formulations with the higher amount of filleting waste pulp.

The remaining percentages of the total chemical composition analyses are thought to be due to carbohydrate. Among the different formulations there was no difference on carbohydrate content and the values ranged from 4.30 to 7.17 g % for cooked samples and from 3.64 to 5.87 g % for uncooked samples. In general, fish are known to have low amounts of carbohydrate in their muscle (Tokur et al. 2006). However, the higher amount of carbohydrate observed might be derived from the ingredients used in fishburger formulation such as wheat flour.

Chemical composition results were similar to those found for fish fingers made from unwashed fish fillet mince of mirror carp (*Cyprinos carp*) that showed values of 68.5%, 15.5 %, 6%, 2.2 % and 7.8 % for moisture, protein, lipid, ash, and carbohydrate content, respectively (Tokur et al. 2006).

The fish pulp used in fishburger formulations in this study was obtained using a meat grinder in the laboratory. However, its proximate composition ( $79.0 \pm 0.3\%$  moisture,  $1.1 \pm 0.1\%$  ash,  $19.9 \pm 0.4\%$  protein, and  $6.1 \pm 0.2\%$  fat) was very similar to that of pulp obtained using an industrial fish deboning machine in a fish processing plant ( $76.9 \pm 0.1\%$  moisture,



1.9 ± 0.1% ash, 20.4 ± 1.5% protein, and 6.8 ± 0.1% fat). Also, proximate composition of these both fish pulps is similar to that reported for silver catfish fillets (Losekann, 2006).

### 3.2. Fatty acids methyl esters (FAMES)

Stability of frozen products to lipid oxidation is influenced by the amount of fat and by their fatty acid composition. Fatty species are more prone to oxidation than lean species, and species with more highly unsaturated fatty acids are less stable than the other species (Santos-Yap, 1996). However, nutritional value of fish is connected with their high n-3 polyunsaturated fatty acids content that has beneficial effects to human health (Suárez-Mahecha et al., 2002).

The fatty acid composition of the cooked and uncooked fishburger formulations produced with silver catfish fillets and filleting waste pulp are presented in Table 2. The dominant fatty acids in all formulations were oleic (C18:1-n-9c), palmitic (C16:0), linoleic (C18:2-n-6c), and stearic (C18:0) acids. As expected fatty acid profile of control fishburgers (made only with fish fillets) was very similar to that previously reported for silver catfish fillets (Losekann, 2006).

No effect of cooking was observed on fatty acid profile of silver catfish burgers. ANOVA revealed a significant main effect of filleting pulp wastes addition on the content of most fatty acids, but the behavior varied according to the compound evaluated (Table 2). Content of C14:0, C16:1n-7t, C16:1n-7c, C20:1n9, C18:3n-3, C20:4n-6, and C22:5n-3 increased with increasing pulp levels, and the highest values were found in F80 ( $p < 0.05$ ). These fatty acids were all found in the filleting pulp wastes (Table 3) at higher levels when compared to levels found in control fishburgers (no pulp addition), which would explain their increase in burgers formulated with fish pulp. In contrast, content of C18:0, C18:1n-9t, C18:2n-6t, and C18:2n-6c decreased with increasing levels of pulp from filleting wastes in

fishburger formulation ( $p < 0.05$ ). Accordingly, these fatty acids were found at very low concentrations or were not detected in pulp from filleting wastes.

A significant interaction between cooking process and filleting waste pulp addition was observed just on the levels of C12:0, C14:1n-5, and C20:5n-3 fatty acids. After the cooking process C12:0 levels decreased only in F20 and F50, C14:1n-5 decreased only in control burgers ( $p < 0.05$ ). Heat degradation or fat releasing during cooking process could explain these alterations.

Total monounsaturated fatty acids (MUFA) increased with the increase of pulp level and the highest values were obtained for formulations with 80% substitution ( $p < 0.05$ ). Nevertheless, no significant effect of pulp addition was observed for polyunsaturated (PUFA), saturated fatty acids (SFA), or UFA/SFA ratio.

Usually humans consume a diet with a high n-6/n-3 ratio. The excess of n-6 fatty acids stimulates synthesis of arachidonic acid (C20:4n-6), which is a precursor of prostaglandins and other eicosanoids that are involved in inflammatory responses. Much evidence supports the conclusion that an increased intake of linoleic acid and an elevated n-6/n-3 ratio is a major risk factor for western-type cancers and diseases for which anti-inflammatory drugs are effective. Based on this evidence, the Japan Society for Lipid Nutrition recommends that the n-6/n-3 ratio should be less than 4:1 for healthy adults and less than 2:1 for the prevention of the chronic diseases of the elderly. The World Health Organization now recommends a n-6/n-3 ratio between 3:1 and 4:1 (Horrocks e Yeo, 1999).

There was a significant effect of the levels of filleting wastes on the n-6/n-3 ratio of fishburgers (Table 2). The n-6/n-3 ratios obtained for F20, F50, and F80 were significantly lower than that obtained for control samples and were in agreement with health recommendations.

Fatty acid composition of pulp from filleting wastes produced with a meat grinder (FPMG) and that obtained with an industrial deboning machine (FPDM) are presented in Table 3. C12:0, C20:0, C14:1n-5, C16:1n-7c, C18:1n-9c, C20:1n9, C18:2n-6c, C18:3n-3, and C22:5n-3 levels were affected by the process used for obtaining pulp from filleting waste. As a result of these alterations total PUFA content and n-6/n-3 ratio were higher for FPDM than for FPMG.

### *3.3. Cooking characteristics*

Exudation during the cooking process is a very important transformation in meat products with high moisture content (75% or more) and represent economic loses, and alterations on nutritional value due to the release of soluble vitamins and amino acids and some negative modification on texture and juiciness (Fennema, 2000). During the cooking process water evaporation and lipid migration from the fishburgers could occur and the intensity could be very important for the product acceptance.

Moisture and fat retention are related to the ability of the protein matrix to retain water and bind fat. Cooking yield, fat and moisture retention were measured (Table 4) to determine the influence of adding pulp from filleting waste on fishburger formulations. Our results showed that formulation with 50% fish pulp from filleting wastes had the highest cooking yield. No effect of fish pulp addition was observed on the fat or moisture retention.

We found no previous research about cooking characteristics of fishburgers. Results of cooking yield and moisture retention were similar to those reported for beef burgers while fat retention was somewhat higher (Khalil, 2000; Seabra e Zapata, 2002; Aleson-Carbonell et al. 2005).

### *3.4. Color measurement*

Color parameters of cooked and uncooked fishburgers formulated with increasing levels of filleting wastes pulp are shown in Table 5. Similar results for L\* and b\* values were found for fishburgers produced from underutilized fish species from Sultanate of Oman in the Arabian Gulf (Al-Bulushi et al., 2005).

The addition of 50 and 80% pulp from filleting wastes in burger formulations resulted in darker samples with L\* (lightness) and chroma (saturation) values lower than those of control and 20% pulp formulations ( $p < 0.05$ ). It was also observed a significant decrease of yellow color intensity (b\* and hue angle values) and an increase of redness (a\* value) with the addition of filleting waste pulp in the fishburger formulations. These results could be explained by the higher amount of blood or fish meat pigments in the filleting wastes used for pulp production than in the grounded fish fillet.

During heating of meat and fish food products Maillard reaction, protein denaturation, and fat and water exudation may take place, being responsible for color and taste development of cooked products (Fennema, 2000). The cooking process had a significant effect on color parameters of silver catfish burgers, but no significant cooking x formulation interaction was observed. All samples had a yellow color development after the cooking process, as indicated by the increase in b\* value and hue angle. Chroma and L\* values indicated that saturation increased, while lightness decreased ( $p < 0.05$ ) in all formulations after heating. Cooking did not affect a\* values of fishburgers.

### *3.5. Sensory evaluation*

The effect of adding filleting waste pulp on texture and juiciness of fishburgers was determined by trained panelists (Table 6). There was no significant difference among the formulations with different levels of pulp in the sensory attributes analyzed.

Overall acceptance of the different formulations was evaluated by ordering test with non-trained panelists and results showed that only the formulation with 80% filleting wastes pulp had lower acceptance than control ( $p < 0.05$ , data not shown). Considering that no differences were observed in the texture and juiciness among the formulations, lower acceptance of 80% pulp formulation could be explained by some undesirable taste or by color change (Table 5) due to the incorporation of high amount of fish pulp.

#### **4. Conclusion**

The fishburgers produced from silver catfish fillets with a substitution level of 50% for filleting wastes pulp had higher nutritional value, better cooking characteristics, and the same acceptance of control. Utilization of pulp from filleting wastes in the formulation of burgers from silver catfish is a valuable alternative for this processing by-product and can result in food products with a great acceptance and nutritional value.

#### **Acknowledgements**

Work supported by grants 475017/03-0 (Edital Universal CNPq) and MCT/FINEP - AQUICULTURA – Ação Transversal 12/2005. Tatiana Emanuelli is the recipient of CNPq research Fellowship. Vivian Caetano Bochi is the recipient of a CAPES Master degree Fellowship. Cristiane Portes Ribeiro was the recipient of a FAPERGS Scientific Initiation Fellowship. André de Moura Victório was the recipient of a FIPE/UFSM Scientific Initiation Fellowship. Authors thank to Sílvia Montagner Dalcin and the staff from Unipeixe (UNIJUÍ, Ajuricaba, RS, Brazil) for technical support to use the industrial fish deboning machine.

## References

- ABNT, 1998. Alimentos e bebidas – Análise Sensorial – Teste de análise descritiva quantitativa (ADQ), NBR14140, Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
- Al-Bulushi, I. M., Kasapis, S., Al-Oufi, H., Al-Mamari, S., 2005. Evaluating the quality and storage stability of fishburgers during frozen storage. *Fish. Sci.* 71, 648-654.
- Alesson-Carbonell, L., Fernández-López, J., Pérez-Alvarez, J. A., Kuri, V., 2005. Characteristics of beef burger as influenced by various types of lemon albedo. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 6, 247-255.
- AOAC. (1995). Official methods of analysis of the association of the official analysis chemists, 16<sup>th</sup> edition. Arlington, Virginia: Association of Official Analytical Chemists.
- Bligh, E.G. & Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canad. J. Biochem. Physiol.* 37 (8), 911-917.
- Cakli, S. K., Taskaya, L., Kisla, D., Çelik, U., Ataman, C. A., Cadun, A., Kilinc, B., Maleki, R. H., 2005. Production and quality of fish fingers from different fish species. *Eur. Food Res. Technol.* 220, 526-530.
- Coldebella, I. J., Radünz Neto, J., 2002. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Ciênc. Rural.* 32 (3), 499-503.
- Copatti, C. E., Coldebella, I. J., Radünz Neto, J., Garcia, L. O., Da Rocha, M. C., Baldisseroto, B., 2005. Effect of dietary calcium on growth and survival of silver catfish fingerlings, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae), exposed to different water pH. *Aquacult. Nutrit.* 11, 345-350.
- Contreras-Guzmán, E. S., 1994. Bioquímica de pescados e derivados. FUNEP: Jaboticabal.

- Dutcosky, S. D., 1996. Análise sensorial de alimentos. Curitiba: Universitária Champagnat, pp. 109–115.
- FAO, 2005. Síntesis regional del desarrollo de la acuicultura: 1. América latina y el caribe, FAO Fisheries Circular No. 1017/1. Food and Aquacultural Organization of the UN, Rome, 194pp.
- FAO, 2006. State of world aquaculture:2006. FAO Fisheries Technical Paper, 500. Food and Aquacultural Organization of the UN, Rome, 145pp.
- Fennema, R. O., 2000. Química de los Alimentos, third ed., Acríbia S. A., Zaragoza, Spain.
- Fracalossi, D. M., Zaniboni Filho, E., Meurer, S., 2002. No rastro das espécies nativas. Pan. da Aquicult. Novemb./Decemb., 43-49.
- Gomes, L.C., Golombieski, J., Chippari-Gomes, A.R., Baldisserotto, B., 2000. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). Ciência Rural 30 (1), 179–185.
- Hartmann, L., Lago B. C., 1973. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. Lab. Pract. 22, 475-477.
- Horrocks, L. A., Yeo, Y. K., 1999. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). Pharmacol. Res. 40 (3), 211-225.
- Khalil, A. H., 2000. Quality characteristics of low-fat beef patties formulated with modified corn starch and water. Food Chem. 68, 61-68.
- Koüse, A., Boran, M., Boran, G., 2006. Storage properties of refrigerated whiting mince after mincing by three different methods. Food Chemistry. 99, 129-135.
- Lazzari, R., Radünz Neto, J., Emanuelli, T., Pedron, F. A., Costa, M. L., Losekann, M. E., Correia, V. Bochi, V. C., 2006. Diferentes fontes proteicas para a alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*). Ciênc. Rural. 36 (1), 240-246.

- Losekann, M. E., 2006. Produção de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com diferentes dietas contendo óleos de arroz, canola ou soja. Master dissertation. Rural science center, UFSM, Brazil, pp46.
- Meilgaard, M., Cirille, G. V., & Carr, B. T., 1991. Sensory evaluation techniques (2nd ed.). Boca Raton: CRC, pp. 135–185.
- Melo, J. F. B., Neto, J. R., Silva, J. H. S., Trombetta, C. G., 2002. Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídeos. Ciênc. Rural. 32 (2), 323-327.
- Meyer, G., Fracalossi, D. M., 2004. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. Aquaculture. 240, 331-343.
- Oetterer, 2002. Industrialização do pescado cultivado. Ed. Agropecuária, Guaíba, RS, Brazil.
- Santos-Yap, E. E. M., 1996. Fish and Seafood, in: Jeremiah, L. E.(Eds) Freezing effects on food quality. Marcel Dekker Inc., New York, pp.109-133.
- Seabra, L. M. J., Zapata, J. F. F., 2002. Fécula de mandioca e farinha de aveia como substitutos de gordura na formulação de hambúrgueres de carne ovina. Ciênc. Tecnol. Aliment. 22 (3), 244-248.
- Sebben, C. L., Beirão, L. H., Meinert, E. M., Teixeira, E., Damian, C., 2000. Rendimento e avaliação sensorial de hambúrgueres de carpa (*Cyprinus carpio*) com diferentes condições de processamento e armazenagem sob congelamento. Bol. CEPPA. 18 (1), 1-12.
- Sehgal, H. S., Sehgal, G. K., 2002 Aquacultural and socio-economic aspects of processing carps into some value-added products. Bioresour. Technol. 82, 291-293.



- Suárez-Mahecha, H., Francisco, A., Beirão, L. H., Block, J. M., Saccol, A., Pardo-Carrasco, S., 2002. Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. Bol. Inst. Pesca. 28 (1), 101-110.
- Tokur, B., Ozkütük, S., Atici, E., Ozyurt, G., Ozyurt, C. E., 2006. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18°C). Food Chem. 99 (2), 335-341.
- Yerlikaya, P., Gokoglu, N., Uran, H., 2004. Quality changes of fish patties produced from anchovy during refrigerated storage. Eur. Food Res. Technol. 220, 287-291.

Table 1: Proximate composition (%) of fishburgers with different levels of pulp filleting wastes from silver catfish

| Formulations    | Moisture                  | Ash                        | Fat                        | Protein                     | Carbohydrate |
|-----------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------------|
| <i>Control</i>  |                           |                            |                            |                             |              |
| <i>Uncooked</i> | 74.36 ± 0.64 <sup>a</sup> | 2.09 ± 0.05 <sup>c</sup>   | 5.27 ± 0.75 <sup>d</sup>   | 14.63 ± 0.60 <sup>c</sup>   | 3.64 ± 0.37  |
| <i>Cooked</i>   | 62.23 ± 0.58 <sup>b</sup> | 3.03 ± 0.04 <sup>a,b</sup> | 6.81 ± 0.39 <sup>b</sup>   | 23.24 ± 1.60 <sup>a</sup>   | 4.68 ± 0.27  |
| <i>F20</i>      |                           |                            |                            |                             |              |
| <i>Uncooked</i> | 73.49 ± 0.44 <sup>a</sup> | 2.35 ± 0.08 <sup>b,c</sup> | 5.71 ± 0.74 <sup>c,d</sup> | 12.94 ± 1.41 <sup>c</sup>   | 5.51 ± 0.13  |
| <i>Cooked</i>   | 64.26 ± 1.60 <sup>b</sup> | 3.26 ± 0.29 <sup>a</sup>   | 6.56 ± 1.12 <sup>b</sup>   | 20.17 ± 1.37 <sup>a,b</sup> | 6.75 ± 0.35  |
| <i>F50</i>      |                           |                            |                            |                             |              |
| <i>Uncooked</i> | 74.22 ± 1.15 <sup>a</sup> | 2.66 ± 0.16 <sup>b</sup>   | 6.28 ± 0.29 <sup>b,c</sup> | 12.72 ± 0.44 <sup>c</sup>   | 4.12 ± 0.07  |
| <i>Cooked</i>   | 63.11 ± 2.32 <sup>b</sup> | 3.14 ± 0.07 <sup>a</sup>   | 6.57 ± 0.26 <sup>b</sup>   | 19.13 ± 1.11 <sup>b</sup>   | 7.17 ± 0.18  |
| <i>F80</i>      |                           |                            |                            |                             |              |
| <i>Uncooked</i> | 72.40 ± 0.06 <sup>a</sup> | 2.45 ± 0.10 <sup>b</sup>   | 6.52 ± 0.23 <sup>b</sup>   | 12.76 ± 0.64 <sup>c</sup>   | 5.87 ± 0.17  |
| <i>Cooked</i>   | 63.38 ± 1.79 <sup>b</sup> | 3.48 ± 0.19 <sup>a</sup>   | 8.11 ± 0.37 <sup>a</sup>   | 20.73 ± 1.72 <sup>a,b</sup> | 4.30 ± 0.26  |

Results are mean of three determinations ± standard error. Means that have no common letter within the same column are statistically different ( $p < 0.05$ ). F20: formulation with 20% filleting waste pulp; F50: formulation with 50% filleting waste pulp; F80: formulation with 80% filleting waste pulp.

Table 2: Fatty acid composition (% of total fatty acids) of fishburgers produced with different levels of silver catfish filleting wastes pulp

| Fatty acids  | Control                     |                            | F20                        |                            | F50                        |                            | F80                        |                          |
|--------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|
|              | Uncooked                    | Cooked                     | Uncooked                   | Cooked                     | Uncooked                   | Cooked                     | Uncooked                   | Cooked                   |
| C12:0        | 0.56 ±0.03 <sup>a</sup>     | 0.41±0.06 <sup>a</sup>     | 0.44 ±0.19 <sup>a</sup>    | ND <sup>c</sup>            | 0.45 ±0.11 <sup>a</sup>    | ND <sup>c</sup>            | 0.25 ±0.0 <sup>b</sup>     | 0.48 ±0.22 <sup>a</sup>  |
| C14:0        | 1.05 ±0.12 <sup>c</sup>     | 1.00 ±0.05 <sup>c</sup>    | 1.17 ±0.12 <sup>c</sup>    | 1.23 ±0.08 <sup>b,c</sup>  | 1.49 ±0.08 <sup>a,b</sup>  | 1.42 ±0.06 <sup>b,c</sup>  | 1.72 ±0.12 <sup>a</sup>    | 1.72 ±0.06 <sup>a</sup>  |
| C16:0        | 23.96 ±0.57                 | 23.39 ±0.43                | 23.01 ±0.86                | 22.89 ±1.03                | 23.21 ±0.63                | 23.31 ±0.74                | 22.62 ±0.71                | 22.73 ±0.91              |
| C18:0        | 11.14 ±0.29 <sup>a,b</sup>  | 11.46 ±0.45 <sup>a</sup>   | 11.08 ±0.66 <sup>a,b</sup> | 11.41 ±0.11 <sup>a</sup>   | 10.41 ±0.31 <sup>a,b</sup> | 10.97 ±0.02 <sup>a,b</sup> | 10.11 ±0.65 <sup>a,b</sup> | 9.90 ±0.08 <sup>b</sup>  |
| C20:0        | 0.76 ±0.02                  | 0.76 ±0.07                 | 0.81 ±0.04                 | 0.78 ±0.06                 | 0.76 ±0.02                 | 0.72 ±0.03                 | 0.79 ±0.02                 | 0.80 ±0.07               |
| C22:0        | 0.65 ±0.02                  | 0.73 ±0.17                 | 0.70 ±0.08                 | 0.68 ±0.10                 | 0.62 ±0.02                 | 0.60 ±0.04                 | 0.62 ±0.05                 | 0.63 ±0.10               |
| C24:0        | 0.51 ±0.01                  | 0.59 ±0.17                 | 0.34 ±0.03                 | 0.48 ±0.10                 | 0.43 ±0.04                 | 0.45 ±0.03                 | 0.46 ±0.06                 | 0.47 ±0.09               |
| Σ SFA        | 38.63 ±0.44                 | 38.35 ±0.93                | 37.56 ±0.50                | 37.46 ±0.87                | 37.37 ±0.41                | 37.47±0.71                 | 36.56 ±0.06                | 36.74 ±0.79              |
| C14:1n5      | 0.47 ±0.09 <sup>a,b,c</sup> | ND <sup>d</sup>            | 0.62 ±0.01 <sup>a,b</sup>  | 0.66 ±0.06 <sup>a</sup>    | 0.30 ±0.02 <sup>c</sup>    | 0.44 ±0.14 <sup>b,c</sup>  | 0.40 ±0.05 <sup>c</sup>    | 0.40 ±0.04 <sup>c</sup>  |
| C16:1n7t     | 0.32 ±0.02 <sup>b</sup>     | 0.50 ±0.10 <sup>a,b</sup>  | 0.38 ±0.03 <sup>b</sup>    | 0.40 ±0.01 <sup>b</sup>    | 0.47 ±0.02 <sup>a,b</sup>  | 0.47 ±0.01 <sup>a,b</sup>  | 0.60 ±0.05 <sup>a</sup>    | 0.60 ±0.04 <sup>a</sup>  |
| C16:1n7c     | 2.66 ±0.37 <sup>d</sup>     | 2.76 ±0.34 <sup>d</sup>    | 4.04 ±0.25 <sup>c</sup>    | 4.41 ±0.25 <sup>c</sup>    | 5.61 ±0.04 <sup>b</sup>    | 5.47 ±0.11 <sup>b</sup>    | 7.30 ±0.27 <sup>a</sup>    | 7.28 ±0.28 <sup>a</sup>  |
| C18:1n9t     | 7.54 ±0.21 <sup>a,b</sup>   | 8.77 ±1.47 <sup>a</sup>    | 7.08 ±0.03 <sup>b,c</sup>  | 6.71 ±0.08 <sup>b,c</sup>  | 6.38 ±0.02 <sup>b,c</sup>  | 6.25 ±0.13 <sup>b,c</sup>  | 5.67 ±0.11 <sup>c</sup>    | 5.63 ±0.16 <sup>c</sup>  |
| C18:1n9c     | 25.22 ±0.62                 | 25.73 ±1.24                | 26.38 ±0.85                | 27.04 ±0.80                | 25.14 ±0.35                | 25.82 ±0.64                | 25.42 ±0.85                | 25.07 ±0.28              |
| C20:1n9      | 0.50 ±0.03 <sup>c</sup>     | 0.55 ±0.04 <sup>b,c</sup>  | 0.65 ±0.07 <sup>b,c</sup>  | 0.65 ±0.09 <sup>b,c</sup>  | 0.77 ±0.05 <sup>a,b</sup>  | 0.74 ±0.06 <sup>b</sup>    | 0.97 ±0.05 <sup>a</sup>    | 0.97 ±0.12 <sup>a</sup>  |
| Σ MUFA       | 36.72 ±0.71 <sup>b</sup>    | 38.31 ±1.29 <sup>a,b</sup> | 39.15 ±1.11 <sup>a,b</sup> | 39.87 ±0.73 <sup>a</sup>   | 38.67 ±0.27 <sup>a,b</sup> | 39.18 ±0.52 <sup>a,b</sup> | 40.37 ±0.77 <sup>a</sup>   | 39.94 ±0.58 <sup>a</sup> |
| C18:2n6t     | 0.88 ±0.07 <sup>a</sup>     | 0.78 ±0.11 <sup>a,b</sup>  | 0.74 ±0.01 <sup>a,b</sup>  | 0.72 ±0.01 <sup>a,b</sup>  | 0.71 ±0.01 <sup>a,b</sup>  | 0.68 ±0.03 <sup>b</sup>    | 0.63 ±0.06 <sup>b</sup>    | 0.60 ±0.01 <sup>b</sup>  |
| C18:2n6c     | 18.67 ±0.96 <sup>a</sup>    | 17.03 ±1.70 <sup>a,b</sup> | 16.05 ±1.38 <sup>a,b</sup> | 15.62 ±0.40 <sup>a,b</sup> | 15.95 ±0.25 <sup>a,b</sup> | 15.18 ±0.45 <sup>b</sup>   | 13.76 ±1.11 <sup>b</sup>   | 14.16 ±0.60 <sup>b</sup> |
| C18:3n3      | 1.05 ±0.05 <sup>b</sup>     | 1.08 ±0.23 <sup>b</sup>    | 1.57 ±0.20 <sup>b</sup>    | 1.64 ±0.28 <sup>b</sup>    | 1.97 ±0.09 <sup>a,b</sup>  | 1.90 ±0.16 <sup>a,b</sup>  | 2.40 ±0.15 <sup>a</sup>    | 2.45 ±0.40 <sup>a</sup>  |
| C20:4n6      | 1.57 ±0.02 <sup>b</sup>     | 1.53 ±0.14 <sup>b</sup>    | 1.77 ±0.12 <sup>a,b</sup>  | 1.74 ±0.17 <sup>a,b</sup>  | 2.05 ±0.06 <sup>a</sup>    | 1.98 ±0.12 <sup>a,b</sup>  | 2.39 ±0.11 <sup>a</sup>    | 2.32 ±0.19 <sup>a</sup>  |
| C20:5n3      | ND <sup>c</sup>             | 0.18 ±0.18 <sup>b,c</sup>  | 0.59 ±0.07 <sup>a</sup>    | 0.37 ±0.10 <sup>a,b</sup>  | 0.29 ±0.01 <sup>b</sup>    | 0.54 ±0.04 <sup>a,b</sup>  | 0.39 ±0.04 <sup>a,b</sup>  | 0.31 ±0.03 <sup>b</sup>  |
| C22:5n3      | 0.72 ±0.03 <sup>b</sup>     | 0.95 ±0.18 <sup>b</sup>    | 0.89 ±0.10 <sup>b</sup>    | 0.89 ±0.14 <sup>b</sup>    | 1.13 ±0.09 <sup>a,b</sup>  | 1.08 ±0.11 <sup>a,b</sup>  | 1.36 ±0.09 <sup>a</sup>    | 1.36 ±0.18 <sup>a</sup>  |
| C22:6        | 1.75 ±0.03                  | 1.70 ±0.17                 | 1.83 ±0.17                 | 1.73 ±0.24                 | 1.98 ±0.19                 | 1.95 ±0.20                 | 2.22 ±0.16                 | 2.28 ±0.28               |
| ΣPUFA        | 24.64 ±1.05                 | 23.25 ±2.23                | 23.43 ±0.80                | 22.72 ±0.38                | 24.08 ±0.68                | 23.30 ±1.03                | 23.15 ±0.64                | 23.48 ±0.36              |
| UFA/SFA      | 1.58 ±0.03                  | 1.61 ±0.06                 | 1.67 ±0.04                 | 1.67 ±0.06                 | 1.68 ±0.03                 | 1.67 ±0.03                 | 1.74 ±0.01                 | 1.73 ±0.06               |
| n-6/n-3 PUFA | 6.01 ±0.25 <sup>a</sup>     | 4.93 ±0.15 <sup>b</sup>    | 3.93 ±0.61 <sup>b,c</sup>  | 4.01 ±0.48 <sup>b,c</sup>  | 3.51 ±0.18 <sup>c</sup>    | 3.28 ±0.15 <sup>c</sup>    | 2.68 ±0.33 <sup>c</sup>    | 2.76 ±0.37 <sup>c</sup>  |

Results are mean of three determination  $\pm$  standard error. Means within the same line that have no common letter are statistically different ( $p < 0.05$ ). F20: formulation with 20% fish filleting waste pulp; F50: formulation with 50% filleting waste pulp; F80: formulation with 80% filleting waste pulp. PUFA: polyunsaturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids; UFA: unsaturated fatty acids; SFA: saturated fatty acids. N.D.= not detected. Non detected values were considered as zero in the statistical analysis.

Table 3: Fatty acid composition (% of total fatty acids) of silver catfish pulp filleting waste

| Fatty acids  | FPMG                      | FPDM                      |
|--------------|---------------------------|---------------------------|
| C12:0        | 0.27 ± 0.01 <sup>a</sup>  | N.D. <sup>b</sup>         |
| C14:0        | 3.21 ± 0.14               | 3.10 ± 0.11               |
| C16:0        | 23.27 ± 0.27              | 22.61 ± 0.27              |
| C18:0        | 6.29 ± 1.13               | 6.46 ± 0.10               |
| C20:0        | 0.54 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.40 ± 0.01 <sup>b</sup>  |
| C24:0        | 0.51 ± 0.04               | 0.50 ± 0.02               |
| Σ SFA        | 34.08 ± 0.62              | 33.07 ± 0.23              |
| C14:1n5      | 1.16 ± 0.17 <sup>a</sup>  | 0.41 ± 0.01 <sup>b</sup>  |
| C16:1n7t     | 1.64 ± 0.14               | 1.58 ± 0.04               |
| C16:1n7c     | 16.18 ± 0.80 <sup>a</sup> | 11.31 ± 0.15 <sup>b</sup> |
| C18:1n9t     | 0.26 ± 0.01               | 0.23 ± 0.00               |
| C18:1n9c     | 19.43 ± 0.72 <sup>b</sup> | 24.44 ± 0.48 <sup>a</sup> |
| C20:1n9      | 0.95 ± 0.09 <sup>b</sup>  | 1.97 ± 0.07 <sup>a</sup>  |
| Σ MUFA       | 39.59 ± 1.03              | 39.97 ± 0.22              |
| C18:2n6c     | 9.86 ± 0.51 <sup>b</sup>  | 15.78 ± 0.06 <sup>a</sup> |
| C18:3n3      | 6.39 ± 0.37 <sup>a</sup>  | 3.54 ± 0.10 <sup>b</sup>  |
| C20:4n6      | 2.48 ± 0.49               | 2.51 ± 0.11               |
| C22:5n3      | 2.07 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 0.97 ± 0.04 <sup>b</sup>  |
| C22:6        | 3.13 ± 0.03               | 2.99 ± 0.09               |
| Σ PUFA       | 23.93 ± 0.33 <sup>b</sup> | 25.79 ± 0.35 <sup>a</sup> |
| UFA/SFA      | 1.87 ± 0.09               | 1.99 ± 0.02               |
| n-6/n-3 PUFA | 1.07 ± 0.08 <sup>b</sup>  | 2.44 ± 0.06 <sup>a</sup>  |

Results are mean of three determination ± standard error. Means within the same line that have no common letter are statistically different ( $p < 0.05$ ). FPMG: fish pulp produced with silver catfish filleting wastes with a meat grinder; FPU: fish pulp produced with silver catfish filleting wastes with an industrial fish deboning machine (Unipeixe, Ajuricaba, RS, Brazil). PUFA: polyunsaturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids; UFA: unsaturated fatty acids; SFA: saturated fatty acids. N.D.= not detected. Non detected values were considered as zero in the statistical analysis.

Table 4: Cooking characteristics of fishburgers produced with different levels of silver catfish pulp filleting waste

| Formulations   | Cooking characteristics   |                   |                        |
|----------------|---------------------------|-------------------|------------------------|
|                | Yield (%)                 | Fat retention (%) | Moisture retention (%) |
| <i>Control</i> | 68.90 <sup>b</sup> ± 1.36 | 90.08 ± 8.70      | 57.69 ± 1.80           |
| <i>F20</i>     | 65.94 <sup>b</sup> ± 2.76 | 75.81 ± 5.28      | 57.72 ± 3.25           |
| <i>F50</i>     | 74.89 <sup>a</sup> ± 0.37 | 78.36 ± 2.35      | 63.73 ± 2.24           |
| <i>F80</i>     | 67.59 <sup>b</sup> ± 1.24 | 84.01 ± 0.63      | 59.17 ± 1.53           |

Results are mean ± standard error (n=6). Means that have no common letters within the same column are statistically different (p<0.05). F20: formulation with 20% filleting waste pulp; F50: formulation with 50% filleting waste pulp; F80: formulation with 80% filleting waste pulp.

Table 5: Color parameters of fishburgers produced with different levels of silver catfish pulp filleting waste

| Formulations    | <i>L</i>                  | <i>a</i> *                   | <i>b</i> *                  | <i>Chroma</i>               | <i>Hue angle</i>            |
|-----------------|---------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <i>Control</i>  |                           |                              |                             |                             |                             |
| <i>Uncooked</i> | 73.05 ± 0.14 <sup>a</sup> | 5.12 ± 0.24 <sup>c,d</sup>   | 18.06 ± 0.33 <sup>d</sup>   | 18.77 ± 0.38 <sup>d</sup>   | 74.30 ± 0.45 <sup>b</sup>   |
| <i>Cooked</i>   | 63.70 ± 0.12 <sup>c</sup> | 4.98 ± 0.20 <sup>d,e</sup>   | 24.71 ± 0.04 <sup>a</sup>   | 25.28 ± 0.08 <sup>a</sup>   | 78.63 ± 0.46 <sup>a</sup>   |
| <i>F20</i>      |                           |                              |                             |                             |                             |
| <i>Uncooked</i> | 72.41 ± 0.57 <sup>a</sup> | 5.79 ± 0.35 <sup>a,b,c</sup> | 17.41 ± 0.16 <sup>d</sup>   | 18.27 ± 0.09 <sup>d</sup>   | 71.74 ± 1.13 <sup>c</sup>   |
| <i>Cooked</i>   | 64.87 ± 0.32 <sup>c</sup> | 4.33 ± 0.07 <sup>e</sup>     | 21.52 ± 0.43 <sup>c</sup>   | 21.94 ± 0.44 <sup>c</sup>   | 78.65 ± 0.03 <sup>a</sup>   |
| <i>F50</i>      |                           |                              |                             |                             |                             |
| <i>Uncooked</i> | 70.48 ± 0.17 <sup>b</sup> | 5.56 ± 0.04 <sup>b,c,d</sup> | 15.89 ± 0.39 <sup>e</sup>   | 16.83 ± 0.35 <sup>e</sup>   | 70.79 ± 0.58 <sup>c</sup>   |
| <i>Cooked</i>   | 60.22 ± 0.13 <sup>d</sup> | 5.41 ± 0.13 <sup>c,d</sup>   | 23.39 ± 0.75 <sup>b</sup>   | 24.00 ± 0.76 <sup>a,b</sup> | 77.04 ± 0.11 <sup>a,b</sup> |
| <i>F80</i>      |                           |                              |                             |                             |                             |
| <i>Uncooked</i> | 70.32 ± 0.63 <sup>b</sup> | 6.33 ± 0.07 <sup>a</sup>     | 15.11 ± 0.39 <sup>e</sup>   | 16.39 ± 0.33 <sup>e</sup>   | 67.34 ± 0.73 <sup>d</sup>   |
| <i>Cooked</i>   | 58.83 ± 0.78 <sup>e</sup> | 5.91 ± 0.36 <sup>a,b</sup>   | 22.64 ± 0.59 <sup>b,c</sup> | 23.38 ± 0.66 <sup>b</sup>   | 75.55 ± 0.46 <sup>b</sup>   |

Results are mean ± standard error (n=3). Means that have no common letters within the same column are statistically different (p<0.05). F20: formulation with 20% filleting waste pulp; F50: formulation with 50% filleting waste pulp; F80: formulation with 80% filleting waste pulp.

Table 6: Scores of sensory evaluation of fishburgers produced with different levels of silver catfish waste pulp

| Formulation    | <i>Texture</i> | <i>Juiciness</i> |
|----------------|----------------|------------------|
| <i>Control</i> | 2.50 ± 0.29    | 2.58 ± 0.31      |
| <i>F20</i>     | 2.58 ± 0.29    | 3.08 ± 0.34      |
| <i>F50</i>     | 2.58 ± 0.19    | 2.58 ± 0.23      |
| <i>F80</i>     | 2.67 ± 0.31    | 2.67 ± 0.19      |

Results are mean ± standard error (n=12). F20: formulation with 20% filleting waste pulp; F50: formulation with 50% filleting waste pulp; F80: formulation with 80% filleting waste pulp. Texture (1, very soft; 5, very firm) and juiciness (1, very juicy; 5, very dry) were evaluated using a five-point hedonic scale.



### 3.2. Artigo 2:

## **Antioxidant activity of extract from fruit seeds in a fish food system\***

---

\* Este artigo está em fase final de revisão pelos autores.

## ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACT FROM FRUIT SEEDS IN A FISH FOOD SYSTEM

Vivian C. Bochi<sup>a</sup>, Jucieli Weber<sup>a</sup>, Cristiane P. Ribeiro<sup>b</sup>, André de M. Victório<sup>b</sup>, Tatiana  
Emanuelli<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil  
<sup>b</sup>Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL), Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

---

\* Corresponding author. Tel.: +55 55 3220 8547; fax: +55 55 3220 8353.

*E-mail address:* [tatiemanuelli@smail.ufsm.br](mailto:tatiemanuelli@smail.ufsm.br) (T. Emanuelli).

## **ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACT FROM FRUIT SEEDS IN A FISH FOOD SYSTEM**

### **ABSTRACT**

Mango, peach, and passion fruit seeds were examined for their total phenolic content, radical scavenging capacity against DPPH radicals, ferric-reducing antioxidant power (FRAP), and antioxidant activity against lipid oxidation in a fish model system (0.05, 0.1, 0.15, and 0.3 mg phenolic compounds/4.4ml of silver catfish homogenate). Mango seed extract (MSE) showed the highest phenolic content and total antioxidant activity by DPPH and FRAP assays. Lipid oxidation in fish model system was retarded by the three seed extracts at all concentrations tested. MSE that had the highest antioxidant activity in vitro, was also evaluated against lipid oxidation in fishburgers produced from silver catfish filleting wastes. Burger formulations with 50% pulp from filleting wastes were prepared containing MSE (0, 30, and 90 ppm phenolic compounds). Conjugated dienes, peroxide value, tiobarbituric acid reactive substances, and free fatty acids were the oxidation products measured during frozen storage at -10 and -20°C. All lipid damage measurements were affected by the storage time and temperature. However, MSE had no antioxidant effect against lipid oxidation in silver catfish burgers.

## 1. Introduction

Mango, peach, and passion fruit are tropical fruits produced throughout the world. They are largely used for producing juice nectars, concentrates, jams, jelly powders, fruit bars, flakes, and dried fruits. Agricultural and industrial wastes resulting from these processes have a high biological oxygen demand and are likely to be discarded or used as low-value by-products (Talcott et al., 2003, Berardini et al., 2005). Considering the low economical value and the high content of phytochemical compounds such as glucosinolates and phenolic compounds in plant processing wastes this could be a valuable source of natural antioxidants for use in the food industry.

Recent studies with mango seeds and peel have demonstrated a great amount of polyphenols, mainly gallic and ellagic acids, with a high antioxidant capacity (Soong and Barlow, 2004, Soong and Barlow, 2006, Berardini et al., 2005), but no evaluation was done in a fish food system.

Antioxidant effectiveness in food depends not only on the chemical reactivity of the antioxidant (e.g., free radical scavenging and chelation), but also on another factors such as absorption and distribution of the extract into the product, interactions with other food components (e.g., spices, acids, and others), and environmental conditions (e.g., pH, temperature) (Pazos et al. 2006). Thus, a complete antioxidant evaluation of plant extracts should include its effects in a food system, besides *in vitro* chemical screening assays.

Consumer's preference for healthy and ready-to-eat food products has increased in last years (Tokur et al., 2004). Fish and fishery products are well known as sources of high nutritional value proteins, polyunsaturated fatty acids (PUFA), minerals, and some vitamins. For this reason, consumption of fish and fishery products are increasing and many researches works have focused on the development and shelf life evaluation of such products (Undeland et al., 1998, Aro et al., 2000, Siddaiah et al., 2001, Tokur et al., 2004, Benjakul et al., 2005b, Al-Bulush et al., 2005, Tokur et al., 2006).

In a recent work we developed fishburgers produced from silver catfish fillets and filleting wastes (50%) (Bochi et al., 2007). Burgers had good sensory quality and higher nutritional value when compared to those formulated with no filleting wastes due to the decrease in n-6/n-3 PUFA ratio. Considering the presence of polyunsaturated fatty acids, oxygen incorporation, and tissue membrane damage produced during burger manufacture, lipid oxidation will be the mainly limiting factor for its shelf life during frozen storage.

The purpose of this work was to investigate the *in vitro* antioxidant activity of extracts from mango (*Mangifera indica* L.), peach (*Prunus persica*), and passion fruit (*Passiflora sp.*) seeds using different methods. In addition, the effect of mango extract, the extract with the highest *in vitro* antioxidant capacity, was studied on the stability of fishburgers produced with silver catfish (*Rhamdia quelen*) fillets and pulp from filleting wastes.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Seed extracts

Mango (*Mangifera indica* L.), peach (*Prunus persica*), and passion fruit (*Passiflora sp.*) fruits were purchased from local markets in Santa Maria, Brazil. Seeds were dried in a conventional air-oven during 4 hours at 45°C and then oven-dried at 105°C until constant weight. Dried samples were ground using a Wiley grinder with a 2 mm hole screen and stored at – 20°C.

Extraction was performed as described by Soong and Barlow (2004) with some modifications. A mixture of 0.4 g of each milled sample and 100 ml 50 °GL ethanol was incubated in a water bath at 70°C during one hour, and then centrifuged at 3000 rpm. The supernatant was stored at –20°C until required for analysis of total phenolic compounds and antioxidant activity by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay, ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay, and against lipid oxidation in a food fish model system.

After antioxidant efficacy screening *in vitro*, extraction conditions for mango seeds were optimized in order to enhance the yield of phenolic compounds to use in fishburger formulation (data not shown). The best extraction condition was obtained when 19 g milled sample and 100 ml of 40°GL ethanol were mixed during 5 minutes at 25°C. The extract was centrifuged at 3500 rpm during 15 minutes, and the supernatant was used in fishburger formulation. Phenolic content and total antioxidant activity with DPPH were determined.

### 2.2. Folin-Ciocalteu reagent assay

Total phenolic content was determined using a modified method of Swain and Hillis (1959). An aliquot of the seed extract was mixed with 0.104 µl of 0.25 N Folin-Ciocalteu. After 3 minutes, 0.208 µl of 1N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> was added. The absorbance was determined at 725 nm after 2 hours in the dark. Chlorogenic acid was used as a standard for the calibration

curve. The total amount of phenolic compounds was calculated and expressed as mg chlorogenic acid equivalent/g dried seed used to prepare the extract.

### 2.3. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

A stable solution of DPPH was used for determination of total antioxidant activity of extracts with Brand-Williams *et al.* (1995) modified method. DPPH solution (0.24 mg/ml) was previously diluted until  $1.10 \pm 0.02$  absorbance at 517 nm was obtained. Extract (0.1 ml) was mixed with 1.9 ml diluted methanolic DPPH solution. The antiradical power of the different extracts was determined by measuring the decrease of DPPH absorbance after 24 hours in the dark against a blank. Trolox was used as standard for the calibration curve and the results were expressed as mmol trolox equivalents/g dried seed used to prepare the extract.

### 2.4. Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) assay

A modified method of Benzie and Strain (1996) was used for FRAP assays. Ferric-2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) solution was prepared by mixing 2.5 ml 10 mM TPTZ solution in 40 mM HCl, 2.5 ml 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  and 25 ml of 0.3 M acetate buffer at pH 3.6. Sample (40  $\mu\text{l}$ ) was mixed with 1.2 ml of ferric-TPTZ reagent and incubated at 37°C during 15 min. The absorbance of the colored complex formed with  $\text{Fe}^{+2}$  and TPTZ was determined at 593 nm. Trolox was used as standard for the calibration curve and the results were expressed as  $\mu\text{mol}$  trolox equivalents/g dried seed used to prepare the extract.

### 2.5. Antioxidant activity in fish homogenate

Antioxidant activity in meat system was determined using the method of Moller *et al.* (1999) described by Kang *et al.* (2006) with some modifications. Flesh of the freshwater silver catfish (*Rhamdia quelen*) was grounded, mixed with distilled water (1:3, w/v) and homogenized at 8000 rpm for 30 s in an Ultra Turrax. Fish homogenate was mixed with seed extracts (0, 0.05, 0.1, 0.15, or 0.3 mg of phenolic compounds/4.4ml of fish homogenate) and a blank tube with water instead of seed extract was used as control. Tubes were incubated at 37°C for 0, 30, 60, and 90 min. After incubation, tubes were centrifuged and the supernatant was used to determine lipid oxidation as 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) using the method described by Buege & Aust (1978).

## 2.6. Fishburger formulations

Fresh silver catfish (*Rhamdia quelen*) was obtained from local market at Santa Maria city (RS, Brazil). After purchasing, fish were transferred to the laboratory in bags. On arrival, they were washed in cold water with 5 ppm chlorine, beheaded, gutted, and filleted. The yield of flesh achieved by hand-filleting was 25.7%. Abdominal muscle and backbone without fins were considered as wastes of the filleting process (19.8% yield). Both, fillets and by-products were washed in cold water with 5 ppm chlorine and refrigerated ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) for up to 24 hours until burger formulation.

Three independent replicates were made for each fishburger formulation in a meat pilot plant (Department of Food Technology and Science, UFSM). Filleting wastes were passed twice through a meat grinder fitted with a 2 mm plate to obtain fish pulp without visible fishbone (75% yield). Fish fillets were grounded with a 5 mm plate (89.3% yield).

Formulation of standard fishburgers (no pulp from filleting wastes) was composed of 880 g silver catfish grounded fillet and 120 g textured soy protein (hydrated 1:2 w/v in water) for a 1000g batter. Hydrogenated vegetable fat (5%), ice slurry (10%), wheat flour (5%), salt (1.25 %), white pepper powder (0.04%), onion powder (0.1%), garlic powder (0.1%), coriander powder (0.2%), monosodium glutamate (0.5%), sodium ascorbate (0.3%), sodium tripolyphosphate (0.3%), and sorbitol (4%) were used as ingredients. Based on this standard formulation, another formulation was made by replacing grounded fish fillets with 50% fish pulp from filleting wastes. Formulations were mixed by hand until homogenous dough was obtained. Three levels of mango seed extract (0, 30, and 90 ppm of phenolic compounds) were tested in the formulation containing 50% pulp from filleting wastes. The extracts were added in their liquid form and mixed by hand. Portions of 60g were shaped in a circular mould (9 cm diameter), packaged in low density polyethylene bags and stored inside plastic boxes at  $-10^{\circ}\text{C}$  or  $-20^{\circ}\text{C}$ . Samples were analyzed after 24 hours of freezing (day 0) and after 30, 60, 90, and 120 days of freezing storage.

## 2.7. Lipid damage during freezing

Fishburgers were thawed and the lipid damage was evaluated. Lipids were extracted using chloroform and methanol as described by Bligh and Dyer (1959). Aliquots of chloroform-lipid extract were evaporated and used for determination of fat content, conjugated dienes, peroxide value, and free fatty acids. To prevent lipid oxidation during and after extraction, 0.02% butyl hydroxy toluene was added to the chloroform used.

Conjugated dienes (CD) were measured at 233 nm as described by Recknagel and Glende (1984). All measurements were corrected to a uniform base of 1 mg lipid/ml of cyclohexane.

Peroxide value (PV) was determined using the ferric thiocyanate method (Chapman and Mackay, 1949). Portions of 10-17 mg lipids were dissolved into 1780  $\mu$ l of methanol: benzene solution (30:70 v/v) and 10  $\mu$ l of each ammonium thiocyanate and ferric chloride solutions were added. The reaction tube was incubated at 50°C during 2 minutes and cooled at room temperature. Samples were read at 520 nm and PV was calculated as mEq of oxygen/kg lipid using a standard of Fe(III).

The free fatty acids (FFA) were determined according to Lowry and Tinsley (1976) based on complex formation with cupric acetate/pyridine. Toluene was used as solvent (2.5 ml), 0.5 ml cupric acetate-pyridine reagent was added to the test tube and shaken for 2 min. After the biphasic system was centrifuged for 10 min, and the upper layer was read at 725 nm. Oleic acid was used as standard for the calibration curve and the results were expressed as  $\mu$ g oleic acid/100 g fat.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were determined spectrophotometrically as described by Buege & Aust (1978). Fish sample (1 g) was homogenized in 5 ml 1.5% KCl and centrifuged during 10 min. The supernatant was incubated at 100°C in a medium containing trichloroacetic acid and thiobarbituric acid for color development. After incubation, butyl alcohol was used to extract the reaction product that was determined at 535 nm. 1,1,3,3-Tetraethoxypropane was used for the calibration curve and TBARS values were expressed as mg malonaldehyde/kg sample.

## 2.7. Statistical analysis

All measurements were made in duplicate and results are mean of three independent experiments. Total phenolic content, DPPH radical scavenger assay, and FRAP assay in seeds extracts were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA). Antioxidant activity in a fish homogenates was analyzed by three-way factorial ANOVA (3 extracts x 5 phenolic concentrations x 4 incubation time). Results of lipid damage of the fishburgers during 120 days of storage were evaluated using two-way ANOVA (4 formulations x 5 storage time) with time considered as repeated measure. *Post hoc* comparisons were made using Duncan's test ( $p < 0.05$ ). Statistical analyses were carried out using Statistica 6.0 (Copyright© Stat Soft, Inc 1984-2001).



### 3. Results and discussion

#### 3.1. Antioxidant capacity and total phenolic content

Total antioxidant activity (TAA) measured by DPPH and FRAP assays, and total phenolic content varied considerably among the fruit seed extracts (Table 1). Mango seeds showed the highest phenolic content and TAA, followed by passion fruit and peach seeds. It was possible to notice a linear relationship between phenolic content and antioxidant activity, since both FRAP and DPPH results had a positive correlation with phenolic compounds ( $r^2 > 0.99$  and  $0.90$ , respectively,  $p < 0.05$ ). These results suggest that antioxidant capacity is mainly due to the activity of phenolic compounds. Rababah *et al.* (2005) found a positive linear relationship between phenolic content and antioxidant capacity measured by ORAC assay in fruits ( $r^2 = 0.93$ ). Gil *et al.* (2002) found a wide variation in total antioxidant capacity and phenolic content in different peach cultivars and high correlation between phenolic compounds and DPPH results ( $r^2 = 0.9$ ), but no correlation was observed with any other antioxidant constituents like vitamin C and carotenoids. Although phenolic compounds content had a relationship with TAA activity, the DPPH/phenolics ratio was higher for extracts from mango and passion fruit seeds (0.25 and 0.21) when compared to that of peach seeds (0.10). The same behavior was observed for the FRAP/phenolics ratio (2.59 for mango, 2.88 for passion fruit, and 1.07 for peach seeds). These results indicate that differences in the TAA of the different extracts could not be explained based only on the concentration of phenolic compounds. Phenolics from the mango and passion fruit seeds had similar antioxidant activity, while those from peach seeds were significantly less effective.

The content of phenolic compounds of mango seed extract is similar to that previously reported for mango seed kernel (Soong and Barlow, 2004). The FRAP and DPPH antioxidant activities found for extracts from mango seeds (Table 1) are much higher than those previously reported for extracts from mango peels ( $4.4$  and  $4.9 \mu\text{mol trolox g}^{-1}$ , respectively; Berardine *et al.*, 2005).

No results about antioxidant capacity and phenolic content of passion fruit and peach seeds were found in the literature. Phenolic content of peach seeds was much higher than recently reported for peach flesh ( $1.97$ - $7.59$  mg of chlorogenic acid/g; Rababah *et al.*, 2005). Also, phenolic content of passion fruit juice had lower phenolic content (Talcott *et al.*, 2003) than seeds (Table 1).

Since the extract from mango seeds had the highest antioxidant activity *in vitro*, we optimized its extraction conditions for evaluation of antioxidant activity in a fishburger. Phenolic compounds, DPPH, and FRAP activities in MSE obtained using the optimized extraction procedure ( $17.31 \pm 0.53$  mg CAE/ml extract,  $2.45 \pm 0.03$  mmol trolox equivalents/ml extract, and  $43.00 \pm 1.05$   $\mu$ mol trolox equivalents/ml extract, respectively) were higher than those obtained for MSE without modification on the extraction procedure ( $0.49 \pm 0.01$  mg CAE/ml extract,  $0.12 \pm 0.01$  mmol trolox equivalents/ml extract, and  $1.27 \pm 0.04$   $\mu$ mol trolox equivalents/ml extract, respectively).

### 3.2. TBARS inhibition in a food system

DPPH methodology is based in a direct reaction of an antioxidant with a long-lived nitrogen radical (DPPH $\bullet$ ) that is not similar to the highly reactive peroxy radicals involved in lipid peroxidation (Huang, 2005). Considering that some antioxidants can react with peroxy radical, but not with DPPH $\bullet$ , a study that measure the progression of lipid oxidation against different concentrations of antioxidants can indicate if it is suitable or not for use in foods. Considering this problem, a large variety of accelerated tests expressing antioxidant potency in food systems have been studied (Moller *et al.*, 1999; Kang *et al.*, 2006; Shui and Leong, 2006). These tests mainly include lipids and an increase of temperature is often used for induction of lipid oxidation. Conjugated dienes and 2-thiobarbituric acids reactive substances are the primary and secondary compounds formed during reaction and frequently measured to determine the inhibition degree.

Considering that unsaturated fats are particularly susceptible to oxidation a food system with grounded fish flesh incubated at 37°C was used for measurement of inhibition of TBARS increase by seed extracts (Figure 1).

Acceleration of oxidation process induced by temperature and by rupture of cell walls due to homogenization was observed in control group after 60 minutes, as indicated by the increase in TBARS value ( $p < 0.05$ ). TBARS level in control group at the end of the incubation time was two times higher than initial levels. Extracts from fruit seeds prevented lipid peroxidation at all phenolic concentration evaluated. There was no significant difference in TBARS inhibition among the extracts from the three fruit seeds evaluated. Other researchers found a similar behavior for dittany extract (Moller *et al.*, 1999) and citrus power solution (Kang *et al.*, 2006) using the same oxidation model.

### 3.3. Antioxidant capacity in fishburgers from silver catfish

Unsaturated fatty acids make lipids susceptible to oxygen attack leading to complex chemical changes, development of off-flavors in food, and potential toxic reaction products (Madhavi et al., 1995). In this process free radicals abstract hydrogen from a fatty acid double bond to produce conjugated diene free radicals, as an intermediate product, which could react with triplet oxygen to produce fatty acid hydroperoxide. Lipid peroxy radicals are good oxidizing agents and accelerate the lipid oxidation by abstracting hydrogen from other lipid molecules. This catalytic free radical chain is interrupted by the lipid hydroperoxide decomposition into shorter chain hydrocarbons such as aldehydes, acids, alcohols, etc., which are responsible by the development of the rancidity flavour. (Benjakul, 2005a, Choe e Min, 2005).

Oxidative changes in all formulations of silver catfish burgers were analyzed after 0, 30, 60, 90, and 120 days of storage at  $-10$  or  $-20$  °C by measuring conjugated dienes (CD), peroxide value (PV), tiobarbituric acid reactive substances (TBARS), and free fatty acids. CD and peroxides were the primary oxidation products that increased in all formulations during storage at  $-10$ °C (Figure 2A and 3A) and  $-20$ °C (Figures 2B and 3B) ( $p < 0.05$ ). CD values reached a maximum at 30–60 days of storage, while PV had a maximum at 90 days of storage. After 90 days of storage both CD and PV tended to decrease, suggesting the possible involvement of lipid oxidation products in secondary reactions when 90 days of storage is exceeded. CD and PV results showed similar behavior to that reported for blue whiting (*Micromesistius poutassou*) that also showed a bell-shaped curve and had earlier increase at higher temperature (Aubourg, 1999). In contrast to our results, Tilapia burgers stored at  $-18$ °C showed the maximum PV values at 6 months with a decrease at 8 months (Tokur et al., 2004). This discrepancy could be due to differences in the fatty acid composition of the fish used for burger manufacture that would be responsible for the earlier peroxide formation and decomposition in silver catfish burgers.

ANOVA revealed no significant effect of the formulation on CD values at  $-10$ °C. However at  $-20$ °C, formulations with pulp from filleting wastes had lower CD values than the standard formulations after 30, 60, and 120 days of storage. MSE phenolic compounds had no effect on CD levels.

A significant formulation x storage time interaction was observed on PV in both freezing temperatures. The mean PV obtained at  $-20$ °C were lower than at  $-10$ °C. Standard

formulation showed higher PV than burgers with filleting wastes after 30-60 days at  $-10^{\circ}\text{C}$ . However, after 120 days at  $-10^{\circ}\text{C}$  burger containing filleting wastes had higher PV than that of standard formulation. Thus, the maximum peroxide formation at  $-10^{\circ}\text{C}$  was observed earlier in formulations without pulp from filleting wastes. MSE phenolic compounds had almost no effects on PV, except that pulp + 30 ppm MSE had lower PV values than pulp formulation after 90 days at  $-20^{\circ}\text{C}$ , while pulp + 90 ppm MSE had lower PV values than pulp after 120 days at  $-10^{\circ}\text{C}$  and higher PV values after 60 days at  $-20^{\circ}\text{C}$  ( $p < 0.05$ ).

TBARS is a measurement of secondary lipid oxidation products. A significant storage time effect was observed on TBARS value at  $-10$  and  $-20^{\circ}\text{C}$  (Figure 4). Thus, after 120 days of storage it was possible to notice a significant increase on TBARS values in both temperatures. The mean values obtained at  $-20^{\circ}\text{C}$  were lower than those at  $-10^{\circ}\text{C}$ . No effect of formulations was observed at any temperature. However, at the lowest freezing temperature ( $-20^{\circ}\text{C}$ ), burger formulation with pulp + 90 ppm MSE phenolic compounds had lower TBARS value than pulp alone after 120 days. During the whole storage period, at both freezing temperatures tested, TBARS values of silver catfish burgers were higher than those reported for tilapia burgers (Tokur et al., 2005) and fish fingers from mirror carp (Tokur et al., 2006).

Due to enzymatic activity of lipases from fish muscle, free fatty acids (FFA) could increase during frozen storage and promote undesirable changes like protein denaturation and lipid oxidation (Jeremiah, effects on food quality) and they had high correlation coefficients with texture ( $-0.99$ ) and odor ( $-0.97$ ) sensory changes in kamaboko of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) (Siddaiah et al., 2001).

Figure 5 shows the FFA of the silver catfish burgers. ANOVA revealed a significant storage time effect, but no effect of formulation on FFA at  $-10^{\circ}\text{C}$  ( $p < 0.05$ ). It was observed a significant increase of FFA after 60 days at  $-10^{\circ}\text{C}$ . A significant formulation x storage time interaction was observed on FFA content at  $-20^{\circ}\text{C}$ . FFA increased with storage time at  $-20^{\circ}\text{C}$  just after 60 and 120 days of storage. However, burgers with pulp had lower FFA levels after 120 days at  $-20^{\circ}\text{C}$  than standard formulation. MSE phenolic compounds did not affect FFA levels in silver catfish burgers. Increase of FFA levels during frozen storage was also observed in blue whiting fish (Aubourg, 1999), fishburger from tilapia (Tokur et al., 2004) and kamaboko from minced silver carp (Siddaiah et al., 2001).

#### 4. Conclusion

Among the seed fruits evaluated those from mango and passion fruit yielded extracts with the highest antioxidant activity by DPPH and FRAP assay. Extracts from all fruit seeds are efficient to prevent lipid oxidation in vitro in the fish model system used. However, evaluation of the antioxidant potential of mango seed extract in situ in fishburger formulation revealed no effect.

#### Acknowledgements

Work supported by grants 475017/03-0 (Edital Universal CNPq) and MCT/FINEP - AQUICULTURA – Ação Transversal 12/2005. Tatiana Emanuelli is the recipient of CNPq research Fellowship. Vivian Caetano Bochi is the recipient of a CAPES Master degree Fellowship. Cristiane Portes Ribeiro was the recipient of a FAPERGS Scientific Initiation Fellowship. André de Moura Victório was the recipient of a FIPE/UFSM Scientific Initiation Fellowship. Authors thank to Sílvia Montagner Dalcin and the staff from Unipeixe (UNIJUÍ, Ajuricaba, RS, Brazil) for technical support to use the industrial fish deboning machine.

#### References

- AL-BULUSHI, I. M., KASAPIS, S., AL-OUFI, H., AL-MAMARI, S. Evaluating the quality and storage stability of fishburgers during frozen storage. **Fisheries. Science.** v. 71, p. 648-654, 2005.
- ARO, T., TAHVONEN, R., MATTILA, T., NURMI, J., SIVONEN, T., KALLIO, H. Effects of Season and Processing on Oil Content and Fatty Acids of Baltic Herring (*Clupea harengus membras*) **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** v. 48, n. 12, p. 6085-6093, 2000.
- AUBOURG, S. P. Lipid damage detection during the frozen storage of an underutilized species. **Food Research International.** v. 32, p. 497-502, 1999.
- BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., PHONGKANPAI, V., TANAKA, M. Antioxidative activity of caramelisation products and their preventive effect on lipid oxidation in fish mince **Food Chemistry.** v. 90, p. 231–239, 2005a.
- BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., THONGKAEW, C., TANAKA, M. Effect of frozen storage on chemical and gel-forming properties of fish commonly used for surimi production in Thailand. **Food Hydrocolloids.** V. 19, p. 197–207, 2005b.

BENZIE, F. F. I., STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a Measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**. p. 70-76, 1996.

BERARDINE, N., KNÖDLER, M., SCHIEBER, A., CARLE, R. Utilization of mango peels as a source and polyphenolics. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.6, p.442 – 452, 2005.

BLIGH, E.G. & DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry Physiology**. v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BOCHI, V. C., WEBER J., RIBEIRO, C. P., VICTÓRIO, A. M., EMANUELLI, T. Fishburgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting wastes. *Bioresource Technology* (submetido), 2007. Parte integrante desta dissertação.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. Use of a free radical method to evaluated antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. Technol.** v. 28, p. 25-30, 1995.

BUEGE, J. A., AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**. v. 52, p. 302-310, 1978.

CHOE, E., MIN, D. B. Chemistry and reactions of reactive oxygen species in food. **Journal of Food Science**. v. 70, n. 9, p. 142-159, 2005.

CHAPMAN, R. A, MACKAY, K. The estimation of the peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method. **The Journal of the American Oil Chemists Society**. p. 330-363, 1949.

GIL, M. I., TOMÁS-BARBERÁN, F. A., HESS-PIERCE, B., KADER, A. A. Antioxidant capacity, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, n. 17, p. 4976-4982, 2002.

KANG, H. J., CHAWLA, S. P., JO, C., KWON, J. H., BYUN, M.W. Studies on the development of functional power from citrus peel. **Bioresource Technology**. v. 97, n. 4,p. 614-620, 2006.

LOWRY, R. R., TINSLEY, I. J. Rapid colorimetric determination of free fatty acids. **Journal of the American oil chemists society**. v. 53, p. 470-472, 1976.

- MADHAVI, D. L., DESPANDE, S. S., SALUNKHE, D. K. **Food Antioxidants:** technological, toxicological and health perspectives. New York:Marcel Dekker, Inc.; Hong Kong: Ed., 1995, 490p.
- MOLLER, J. K. S., MADSEN, H. L., AATONEN, T., SKIBSTED, L.H. Dittany (*Oridanum dictamnus*) as source of water extractable antioxidant. **Food Chemistry**. v. 64, p. 215-219, 1999.
- PAZOS, M., ALONSO, A., FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J., TORRES, J. L., MEDINA, I. Physicochemical properties of natural phenolics from grapes and olive oil byproducts and their antioxidant activity in frozen horse mackerel fillets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, n. 2, p. 366-373, 2006.
- RABABAH, T. M., EREIFEJ, K. L., HOWARD, L. Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and colos in fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, n. 11, p. 4444-4447, 2005.
- RECKNAGEL, R. O., GLEND, E. A. Jr. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. **Methods in Enzimology**. v. 105, p. 331-337, 1984.
- SHUI, G., LEONG, L. P. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. **Food Chemistry**. v. 97, p. 277–284, 2006.
- SIDDAIAH, D., REDDY, V. S., RAJU, C. V., CHANDRASEKHAR, T. C. Changes in lipid, proteins and kamoboko forming ability of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) mince during frozen storage. **Food Research International**. v. 34, p. 47-53, 2001.
- SOONG, Y-Y., BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**. v. 88, p. 411–417, 2004.
- SOONG, Y-Y., BARLOW, P. J. Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. **Food Chemistry**. v. 97, p. 524–530, 2006.
- SWAIN, T., HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. – The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of Science and Food Agricultural**. p. 63 – 68., 1959.

TALCOTT, S. T., PERCIVAL, S. S., PITTET-MOORE, J., CELORIA, C. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 51, n. 4, p. 935-941, 2003.

TOKUR, B., POLAT, A., OZKÜTÜK, S., BEKLEVIK G. Changes in the quality of fish burger produced from tilapia (*Oreochromis niloticus*) during frozen (-18°C). **European Food Research Technology**. v. 218, p. 420-423, 2005.

TOKUR, B., OZKÜTÜK, S., ATICI, E., OZYURT, G., OZYURT, C. E. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18°C). **Food Chemistry**. 99, n. 2, p. 335-341, 2006.

UNDELAND I., EKSTRAND B., LINGNERT H. Lipid Oxidation in Minced Herring (*Clupea harengus*) during Frozen Storage. Effect of Washing and Precooking. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 46, n. 6, p. 2319-2328, 1998.

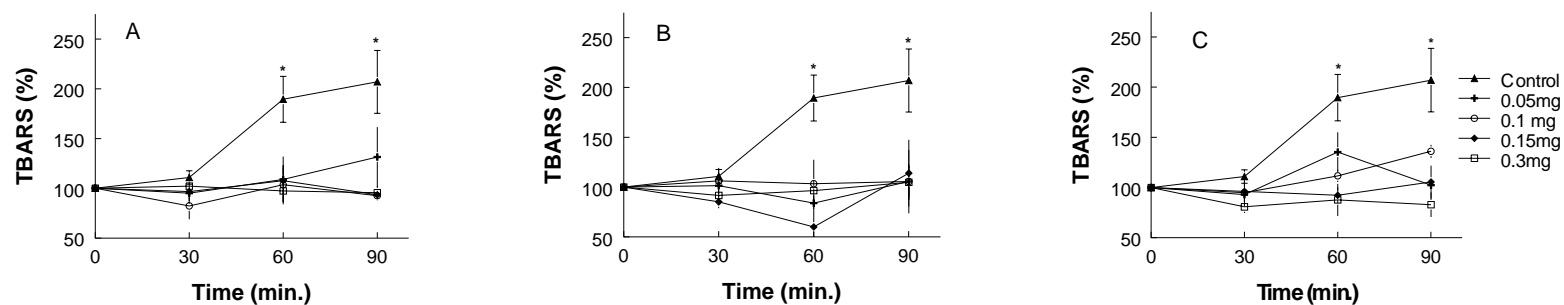
MADHAVI, D. L., DESPANDE, S. S., SALUNKHE, D. K. **Food Antioxidants:** technological, toxicological and health perspectives. New York:Marcel Dekker, Inc.; Hong Kong: Ed., 1995, 490p.



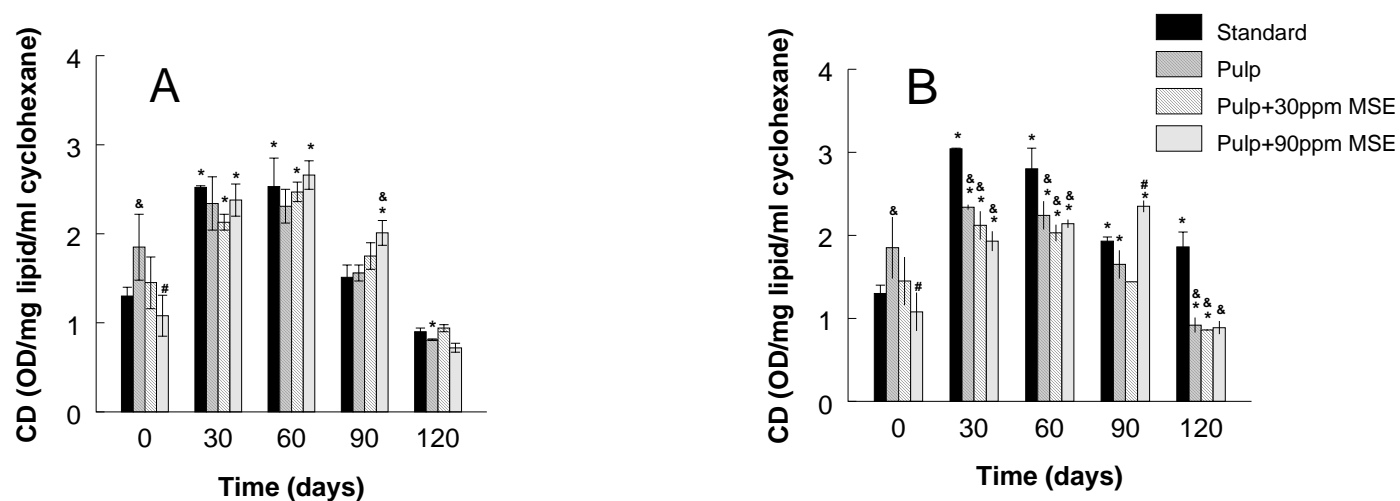
**Table 1: Antioxidant activity and phenolic content of extracts from mango, peach, and passion fruit dried seeds**

| Sample                                 | Antioxidant activity                   |  | Phenolic content                 |
|--|--|--|----------------------------------|
|  | DPPH<br>(mmol trolox.g <sup>-1</sup> ) | FRAP<br>(μmol trolox.g <sup>-1</sup> ) | FCR<br>(mg CAE.g <sup>-1</sup> ) |
| Mango ( <i>Mangifera indica</i> L.)    | 31.13 <sup>a</sup> ± 12.89             | 316.24 <sup>a</sup> ± 10.04            | 122.47 <sup>a</sup> ± 3.14       |
| Peach ( <i>Prunus persica</i> )        | 1.99 <sup>c</sup> ± 0.60               | 21.34 <sup>c</sup> ± 7.52              | 19.93 <sup>c</sup> ± 0.31        |
| Passion fruit ( <i>Passiflora</i> sp.) | 13.32 <sup>b</sup> ± 0.71              | 181.74 <sup>d</sup> ± 45.27            | 63.16 <sup>b</sup> ± 3.18        |

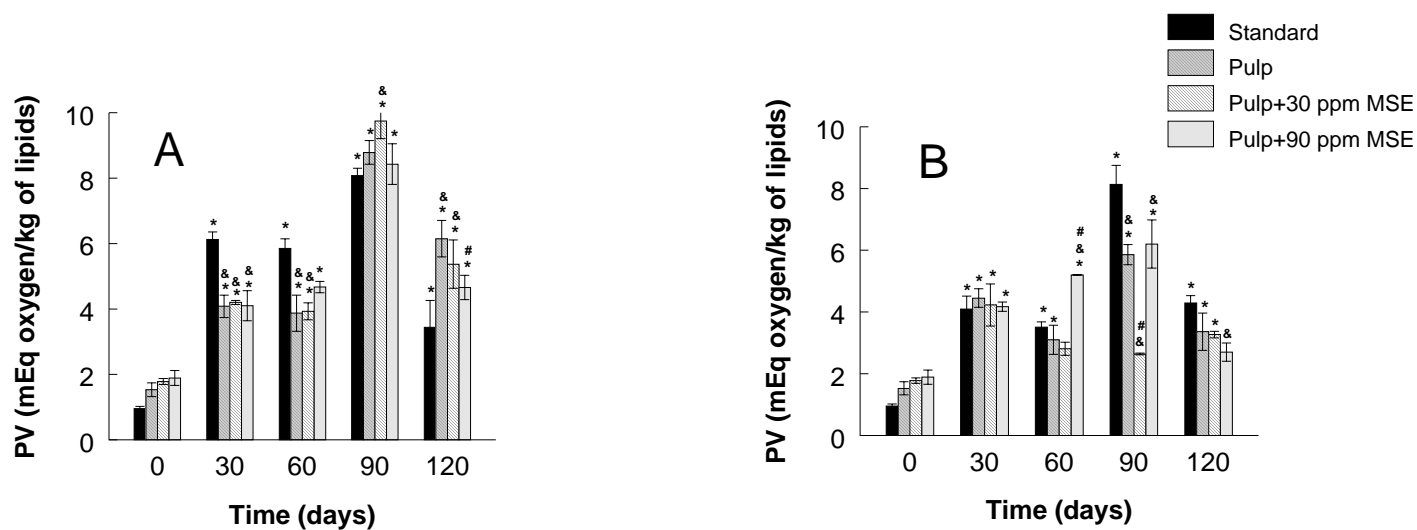
Results are expressed per g of dried seed used to prepare the extract and are the means of three determinations ± standard error. CAE: chlorogenic acid equivalent; FCR: Folin-Ciocalteu reagent; DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; FRAP: ferric reducing antioxidant power. Different letters within the same column indicate significant differences (p<0.05).



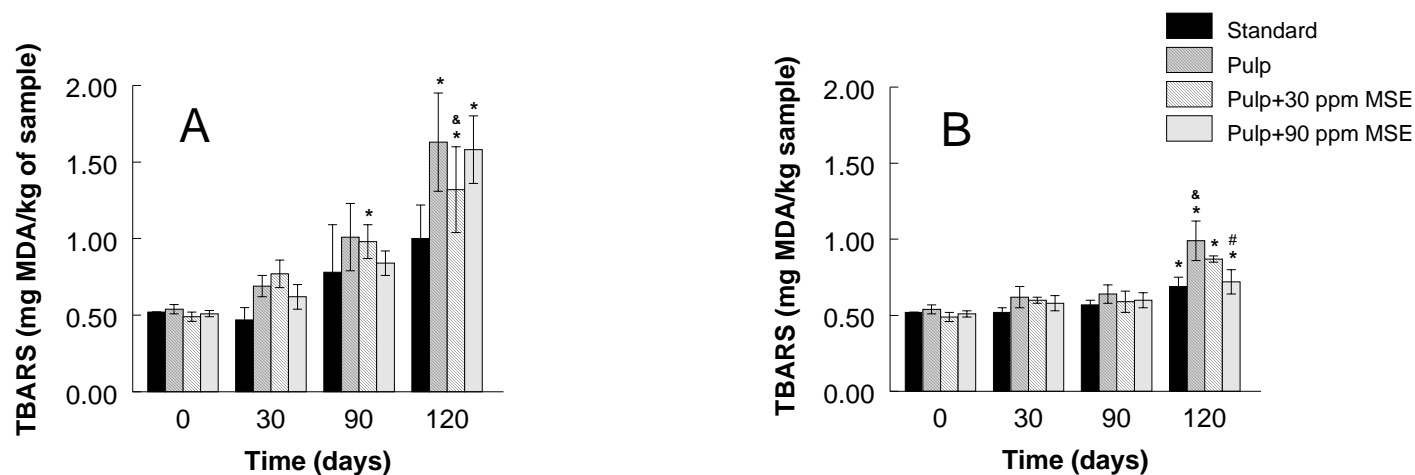
**Figure 1: Increase of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in fish homogenate at 37°C in the absence or presence of ethanolic extracts (0.05-0.3 mg phenolic compounds) from mango (A), passion fruit (B), and peach (C) seeds. Results (% of initial values – time 0) are mean of three determinations  $\pm$  standard error. \*Significantly different from the initial time ( $p < 0.05$ ).**



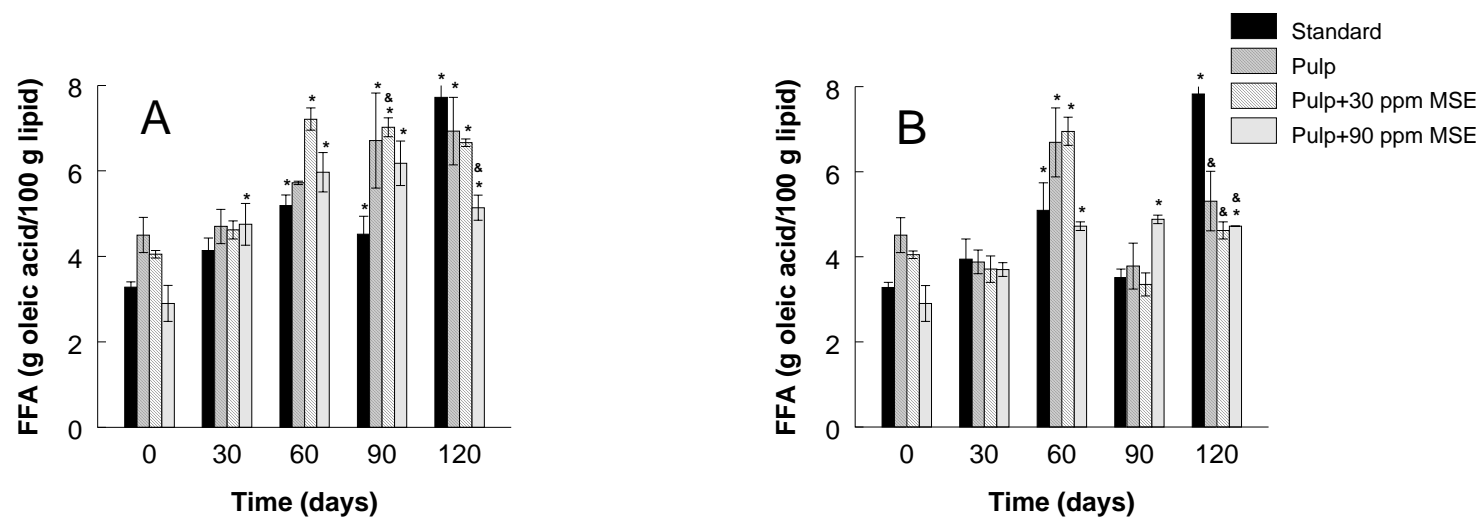
**Figure 2: Effect of mango seed extract (MSE) on conjugated dienes (CD) of silver catfish burgers during storage at  $-10^{\circ}\text{C}$  (A) or  $-20^{\circ}\text{C}$  (B). Results are mean of three determinations  $\pm$  standard error. \*  $p < 0.05$  vs. day 0 from the same formulation. &  $p < 0.05$  vs. standard formulation at the same time. #  $p < 0.05$  vs. pulp waste formulation at the same time. Standard: formulations without pulp from filleting wastes; Pulp: formulations with 50% pulp filleting wastes and 50% grounded fillet; Pulp+30 ppm MSE: plus 30 ppm mango seed extract; Pulp+90 ppm: plus 90 ppm mango seed extract. OD: optical density.**



**Figure 3: Effect of mango seed extract (MSE) on peroxide value (PV) of silver catfish burgers during storage at  $-10^{\circ}\text{C}$  (A) or  $-20^{\circ}\text{C}$  (B).** Results are mean of three determinations  $\pm$  standard error. \* $p < 0.05$  vs. day 0 from the same formulation. &  $p < 0.05$  vs. standard formulation at the same time. # $p < 0.05$  vs. pulp waste formulation at the same time. Standard: formulations without pulp from filleting wastes; Pulp: formulations with 50% pulp filleting wastes and 50% grounded fillet; Pulp+30 ppm MSE: plus 30 ppm mango seed extract; Pulp+90 ppm: plus 90 ppm mango seed extract.



**Figure 4: Effect of mango seed extract (MSE) on thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) of silver catfish burgers during storage at  $-10^{\circ}\text{C}$  (A) or  $-20^{\circ}\text{C}$  (B). Results are mean of three determinations  $\pm$  standard error. \* $p < 0.05$  vs. day 0 from the same formulation. <sup>&</sup> $p < 0.05$  vs. standard formulation at the same time. <sup>#</sup> $p < 0.05$  vs. pulp waste formulation at the same time. Standard: formulations without pulp from filleting wastes; Pulp: formulations with 50% pulp filleting wastes and 50% grounded fillet; Pulp+30 ppm MSE: plus 30 ppm mango seed extract; Pulp+90 ppm: plus 90 ppm mango seed extract.**



**Figure 5: Effect of mango seed extract (MSE) on free fatty acids (FFA) of silver catfish burgers during storage at  $-10^{\circ}\text{C}$  (A) or  $-20^{\circ}\text{C}$  (B).** Results are mean of three determinations  $\pm$  standard error. \* $p<0.05$  vs. day 0 from the same formulation. & $p<0.05$  vs. standard formulation at the same time. # $p<0.05$  vs. pulp waste formulation at the same time. Standard: formulations without pulp from filleting wastes; Pulp: formulations with 50% pulp filleting wastes and 50% grounded fillet; Pulp+30 ppm MSE: plus 30 ppm mango seed extract; Pulp+90 ppm: plus 90 ppm mango seed extract.

#### 4. DISCUSSÃO

Visando avaliar o efeito da inclusão de polpa de resíduos sobre a qualidade das formulações de *fishburger* desenvolvidas, foram realizadas análises da composição centesimal, perfil lipídico, parâmetros de cocção, cor e sensorial (Artigo 1).

As formulações cozidas apresentaram valores significativamente maiores de proteínas, lipídeos e cinzas como resultado da perda de água durante o processo de cocção. A utilização de polpa de resíduos, nos níveis testados, não afetou o teor de umidade, proteínas e cinzas da formulação em estudo ( $p < 0,05$ ). No entanto, foi possível observar um aumento significativo no teor de lipídeos das amostras cruas com 50% e 80% de polpa. Os resultados obtidos são semelhantes aos obtidos em outras pesquisas para *fishburger* de *minced* de tilápia (*Oreochromis niloticus*) (Tokur et al., 2004) e *fish fingers* de *minced* de carpa (*Cyprinus carpio*) (Tokur et al., 2006) produzidos a partir de filés obtidos por filetagem manual.

A polpa de resíduos resultantes de filetagem manual, utilizada neste trabalho foi obtida em moedor de carnes equipado com disco de 2 mm. Considerando que o processo industrial de obtenção de polpa de pescado é realizado em desossadeira mecânica e, que isso pode determinar modificações na qualidade conforme o processo utilizado, a composição centesimal e o perfil lipídico foram determinados na polpa produzida pelos dois métodos.

Os resultados obtidos para a composição centesimal foram semelhantes entre as polpas, porém o método de extração da polpa alterou os resultados da composição lipídica, ocasionando em um aumento da razão n-6/n-3 para a polpa obtida em desossadeira mecânica.

A composição centesimal da polpa de resíduos da filetagem foi semelhante à obtida para filés de jundiá, porém elas diferiram em relação aos resultados obtidos na determinação do perfil lipídico (Losekann, 2006). A composição centesimal obtida para a formulação padrão apresentou resultados semelhantes aos previamente relatados para filés de jundiá (Losekann, 2006). A utilização de polpa de resíduos da filetagem alterou significativamente a composição de ácidos graxos dos *fishburgers*. No entanto, dependendo do composto em estudo, diferentes efeitos foram verificados. Sendo assim, os teores dos ácidos graxos C14:0, C16:1n-7t, C16:1n-7c, C20:1n9, C18:3n-3, C20:4n-6, C22:5n-3 aumentaram com a adição de polpa de resíduos da filetagem, enquanto que os ácidos graxos C18:0, C18:1n-9t, C18:2n-6t, e C18:2n-6c tiveram seus valores reduzidos. As variações acima relatadas foram observadas com maior intensidade na formulação com 80% de polpa, estão de acordo com os resultados obtidos na determinação do perfil lipídico da polpa de resíduos.

A razão entre ácidos graxos poliinsaturados n-6/n-3 diminuiu significativamente com a inclusão de 20, 50 e 80% de polpa. Esses resultados estão de acordo com a diferença observada entre a razão de ácidos graxos n-6/n-3 encontrada para a polpa de resíduos (1,07) e os relatados para filés de jundiá (7,5; Losekann, 2006).

Do ponto de vista nutricional, a diminuição da razão n-6/n-3 é uma alteração desejável, visto que diversos estudos epidemiológicos e experimentos com animais e humanos têm comprovado os efeitos benéficos dos ácidos graxos n-3 na prevenção de doenças cardiovasculares e câncer; e sua essencialidade na formação da retina e desenvolvimento cerebral de recém-nascidos (Simopoulos, 1999).

Considerando que a inclusão de polpa de resíduos da filetagem poderia modificar características sensoriais como a cor, textura e suculência, foram realizadas análises de cor, medidas de parâmetros de cocção e análise sensorial (Artigo 1).

A substituição de filé por 20, 50 ou 80% de polpa de resíduos de filetagem em formulações de *fishburger* não produziu alterações significativas na capacidade de retenção de água e gordura das formulações. Além disso, a formulação com 50% de polpa de resíduos apresentou maiores valores para rendimento pós-cocção que as outras formulações.

Não foram encontrados trabalhos que avaliem a capacidade de retenção de gordura, água e rendimento em *fishburgers* ou produtos semelhantes. No entanto, os resultados obtidos para a capacidade de retenção de água e rendimento pós-cocção foram semelhantes aos relatados para produtos cárneos, enquanto que os valores obtidos para a retenção de gordura foram maiores (Khalil, 2000; Seabra et al. 2002; Aleson-Carbonell et al. 2005).

O processo de cocção resultou no desenvolvimento de coloração amarela indicada pelo aumento nos valores de  $b^*$  e ângulo matiz. Além disso, ocorreu diminuição significativa na luminosidade e saturação (croma) das formulações. Os resultados obtidos estão de acordo com o esperado visto que durante o processo de cocção alterações, como a reação de Maillard, estão ocorrendo e são responsáveis pela característica final do produto cozido.

O aumento da inclusão de polpa de resíduos da filetagem nas formulações provocou o escurecimento da formulação (diminuição dos valores de  $L^*$ ), principalmente nas formulações com mais de 50% de substituição. Além disso, as amostras tiveram um aumento significativo nos valores de  $a^*$  indicando que uma maior quantidade de sangue e pigmentos podem ter sido agregados a formulação a partir da polpa.

Não foram observadas alterações significativas na textura e suculência das formulações com a substituição de filé pela polpa de subprodutos nos níveis testados. No entanto, a formulação com 80% de polpa apresentou menor aceitação que a formulação



padrão no teste de ordenação realizado por julgadores não treinados (n=34). Sendo assim, possíveis alterações na aparência geral e sabor da formulação devem justificar estes resultados já que os parâmetros avaliados não foram alterados.

A lavagem da polpa ou *minced fish* é uma metodologia bastante empregada para a remoção de pigmentos do sangue, compostos nitrogenados solúveis, enzimas e componentes flavorizantes resultando em uma cor e odor menos intensos no produto final (Oeterrer et al., 2006). Tokur et al. (2006) avaliaram o efeito da lavagem de *minced fish* na aceitação de *fish fingers* de carpa e, os resultados indicaram uma maior aceitação para os produtos elaborados com lavagem prévia do *minced fish*. Sendo assim, a lavagem da polpa de resíduos poderia ser testada com o objetivo de aumentar a porcentagem de polpa na formulação de *fishburger* sem alterar a sua aceitação. No entanto, a lavagem provoca perda de proteínas solúveis, o que poderia diminuir o rendimento da polpa obtida.

O teor de lipídeos e a composição de ácidos graxos são os principais fatores que determinam a velocidade de oxidação e o aparecimento de compostos de sabor e odor desagradável (Santos-Yap, 1995). Considerando que o total de ácidos graxos poliinsaturados variou de 22,7 a 24,6%, que durante o processamento da carne de peixe e resíduos da filetagem ocorre a incorporação de oxigênio e, que o congelamento inibe a deterioração por microrganismos, a oxidação lipídica provavelmente será a principal reação que pode provocar alterações indesejáveis durante o armazenamento das formulações desenvolvidas.

Sendo assim, decidiu-se avaliar a vida de prateleira, sob congelamento, dos *fishburgers* desenvolvidos e uma possível extensão dessa vida de prateleira com o uso de antioxidantes naturais obtidos a partir do aproveitamento de resíduos do processamento de frutas (sementes). Assim, avaliou-se o teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante das sementes de manga, maracujá e pêssego. Os resultados foram utilizados para a escolha da melhor fonte para o desenvolvimento de um extrato vegetal que retarde ou previna as alterações causadas pela oxidação lipídica em formulações de *fishburgers* de jundiá (Artigo 2).

Os teores totais de compostos fenólicos e atividade antioxidante total (AAT) variaram entre as fontes utilizadas neste estudo, sendo que os maiores valores foram encontrados na semente de manga, seguido das sementes de maracujá e pêssego ( $p < 0,05$ ). Rababah et al. (2005) também encontrou uma significativa variação no teor de fenólicos totais entre as diversas fontes de frutas estudadas e justificou como sendo resultado da grande variedade de compostos fenólicos e derivados que podem estar presentes nestas frutas.

Os resultados da determinação da atividade antioxidante total em DPPH• e pelo método de FRAP tiveram uma relação linear com o teor de compostos fenólicos totais ( $r^2 > 0,99$  e  $0,90$ , respectivamente,  $p < 0,05$ ), sugerindo que a presença destes compostos é responsável pela atividade antioxidante das sementes. Outros trabalhos também relataram uma alta correlação entre o teor de fenólicos e os resultados da atividade antioxidante total avaliada pelo teste do DPPH• (Gil et al., 2002, Mahattanatawee et al., 2006) ou através da capacidade de absorção de oxigênio radicalar (ORAC, oxygen radical absorbance capacity; Rababah et al., 2005).

No entanto, a razão entre a atividade antioxidante total e o teor de compostos fenólicos foi maior para as sementes de manga e maracujá e menor para a de pêssego (razão DPPH/fenólicos e FRAP/fenólicos, Artigo 2). Portanto, estes resultados sugerem que os compostos fenólicos das sementes de manga e maracujá apresentam maior capacidade antioxidante que os da semente de pêssego. Isto poderia ser justificado por diferenças estruturais entre os compostos fenólicos presentes nas diferentes fontes, pois a estrutura de compostos fenólicos determinará a sua capacidade de remover radicais livres e de quelar metais. No caso de ácidos fenólicos, por exemplo, a atividade antioxidante depende do número e das posições de grupos hidroxila, bem como da alquilação ou glicosilação desses grupos (Rice-Evans et al., 1996).

No entanto, o método usado para determinação de fenólicos baseia-se na sua reação com Folin-Ciocalteu que não é específica. Além de fenólicos, açúcares e ácido ascórbico também podem reagir (Singleton et al., 1965 apud Mathäus, 2002). Sendo assim, as diferenças nas razões poderiam indicar também diferenças no conteúdo destes compostos (proteínas, açúcares, etc.) na semente de pêssego, justificando a menor razão encontrada.

Além das metodologias para determinação da capacidade antioxidante, citadas anteriormente, foi testada a capacidade dos extratos em inibir a oxidação de homogeneizado de carne de peixe submetido ao aquecimento à 37°C durante 90 minutos. Os resultados obtidos para o grupo controle (sem extrato) indicaram que o método utilizado para a indução da oxidação foi efetivo e os valores após 60 minutos sob aquecimento foram maiores que os iniciais. Os extratos das sementes de manga, maracujá e pêssego apresentaram a mesma capacidade de impedir a oxidação lipídica em homogeneizado de carne de peixe quando adicionados na mesma concentração de compostos fenólicos. Sendo assim, a seleção da melhor fonte foi realizada considerando o teor de compostos fenólicos na semente e a atividade antioxidante total medidas em DPPH e pela metodologia de FRAP.

O mesmo modelo alimentar foi utilizado em outras pesquisas para a determinação da capacidade antioxidante de cascas de sementes de frutas cítricas (Kang et al., 2006) e de extratos de um tipo de orégano (dittany; *Origanum dictamnus* L.; Moller et al., 1999) e os resultados de ambas as pesquisas foram satisfatórios na inibição do aumento dos níveis de TBARS quando relacionados ao grupo controle.

As condições de extração iniciais dos compostos fenólicos de semente de manga resultavam em concentrações baixas de compostos fenólicos por volume de extrato. Conseqüentemente, o volume de extrato a ser adicionado durante o preparo dos *fishburgers* seria grande e, uma etapa prévia de concentração por evaporação no extrato seria necessária aumentando o custo de produção. Sendo assim, modificações no processo de extração foram realizadas visando o aumento da concentração destes compostos e a redução do volume de extrato a ser adicionado na massa de *fishburger*. O extrato obtido nas novas condições apresentou maiores valores de compostos fenólicos totais ( $17.31 \pm 0.53$  mg de ácido clorogênico/ml) que o obtido nas condições iniciais ( $0.49 \pm 0.01$  mg ácido clorogênico/ml).

Os produtos primários (dienos conjugados e peróxidos) e secundários (TBARS) da oxidação lipídica, bem como o teor de ácidos graxos livres (AGL), foram medidos para a avaliação do grau de oxidação das formulações padrão (sem adição de polpa), com 50% de polpa de resíduos da filetagem, com 50% polpa e 30 ou 90 ppm de compostos fenólicos do extrato de semente de manga (ESM) (Artigo 2). Estes valores foram estipulados a partir da menor concentração de fenólicos do ESM testado no homogeneizado de carne de peixe que ainda apresentou capacidade de inibição da peroxidação lipídica (0,05mg de compostos fenólicos/4,4 ml de homogeneizado com 25% de carne de jundiá ou 50 ppm de ESM).

A temperatura e o tempo de estocagem tiveram efeito significativo em todos os parâmetros avaliados ( $p < 0,05$ ). O comportamento apresentado pelos teores de dienos conjugados e peróxidos foram semelhantes ao longo do tempo, com tendência a diminuição após 90 dias. Estes resultados indicam o início da decomposição de peróxidos e formação dos produtos secundários da oxidação.

Os resultados de dienos conjugados e peróxidos apresentaram um comportamento semelhante ao relatado para bacalhau (*Micromesistius poutassou*), sendo observado um aumento dos teores até valores máximos, com subsequente diminuição, como resultado da decomposição dos hidroperóxidos e formação de compostos de menor peso molecular. Além disso, o efeito protetor de baixas temperaturas também foi verificado nesta pesquisa (Aubourg, 1999).

Não foram observados efeitos das diferentes formulações de *fishburger* com relação à concentração de TBARS durante a armazenagem. No entanto, na temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , a formulação com polpa e 90 ppm de ESM apresentou menores teores de TBARS que a formulação com polpa sem a adição de extrato, após 120 dias de armazenagem. Após 120 dias a  $-10$  e  $-20^{\circ}\text{C}$ , os níveis de TBARS aumentaram significativamente em todas as formulações. Os valores médios obtidos nas formulações armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  foram menores do que os encontrados a  $-10^{\circ}\text{C}$ , porém os valores foram inferiores aos indicados como limitantes da aceitação em ambas as temperaturas (3 mg/kg; Al-Kahtani et al., 1996).

Durante os 120 dias, em ambas as temperaturas, os valores de TBARS dos *fishburgers* foram maiores do que os relatados para *fishburgers* de tilápia (Tokur et al., 2005) e *fish fingers* de carpa (Tokur et al., 2006).

Considerando que após 120 dias a  $-20^{\circ}\text{C}$  foi verificado uma diminuição significativa nos teores de TBARS das formulações contendo 90 ppm de compostos fenólicos do ESM e, que os valores ainda estavam abaixo dos limites de aceitabilidade, o efeito protetor do ESM poderia ser identificado após o período utilizado neste estudo. Além disso, não se pode descartar a possibilidade de que concentrações maiores de extrato possam apresentar uma inibição mais efetiva da oxidação lipídica em *fishburgers*, já que no modelo alimentar com homogeneizado de carne o extrato foi capaz de inibir o aumento nos níveis de TBARS.

Os níveis de AGL aumentaram durante a armazenagem a  $-10$  e  $20^{\circ}\text{C}$  e, a adição de 30 e 90 ppm de compostos fenólicos do ESM nas formulações de *fishburger* com polpa não apresentou efeito significativo nos resultados de AGL encontrados. Este resultado era esperado já que a hidrólise de ácidos graxos não decorre da oxidação lipídica, mas é resultante da ação de enzimas presentes no músculo de pescados, que são liberadas após o rompimento celular ocasionado pelo processamento. Assim, não seria provável que sofresse influência de antioxidantes.

O aumento nos teores de AGL durante armazenamento congelado foi verificado também em bacalhau (Aubourg, 1999), *fishburger* de tilápia (Tokur et al., 2004) e kamaboko elaborado com *minced* de carpa (Siddaiah et al., 2001).

## 5. CONCLUSÕES

- A elaboração de polpa a partir de subprodutos da filetagem do jundiá possibilitou um aproveitamento de cerca de 75% do resíduo utilizado, representando uma diminuição considerável no impacto ambiental resultante do processamento do jundiá. Além disso, a composição centesimal da polpa obtida foi semelhante à relatada para filés de jundiá, apresentando na fração lipídica menor proporção de ácidos graxos poliinsaturados n-6/n-3.
- A utilização de polpa de subprodutos da filetagem do jundiá na produção de *fishburgers* resultou um aumento significativo no teor de gordura das formulações nos *fishburgers* com 50% e 80% de polpa. No entanto, o perfil lipídico dessas formulações apresentou menor razão entre ácidos graxos poliinsaturados n-6/n-3, representando uma melhora da qualidade nutricional das formulações.
- A capacidade de retenção de água e de gordura não foi afetada pela utilização da polpa de subprodutos da filetagem nos *fishburgers* de jundiá e, o rendimento pós-cocção foi maior nas formulações produzidas com 50% de incorporação de polpa.
- A diminuição da luminosidade e aumento nos valores de  $a^*$  foram as principais alterações de cor provocadas pela incorporação de polpa de subprodutos da filetagem em *fishburgers*.
- Apesar de não terem sido identificadas diferenças significativas na textura e suculência das formulações na análise sensorial, a aceitação de formulações de *fishburger* foi reduzida pela inclusão de 80% de polpa obtida de subprodutos da filetagem do jundiá. Assim, os resultados indicam que a utilização de até 50% da polpa não provou alterações significativas na qualidade sensorial de *fishburgers*, resultando em formulações com melhor qualidade nutricional e de reduzido custo.
- Os extratos de sementes de manga (*Mangifera indica* L.) e maracujá (*Passiflora* sp.) apresentaram maiores teores de fenólicos totais e atividade antioxidante (DPPH e FRAP) que as de pêssigo (*Prunus persica*). No entanto, todos os extratos apresentaram proteção semelhante contra a peroxidação lipídica in vitro em homogeneizado de peixe.
- Não foi observado efeito significativo da adição de extrato de semente de manga sobre a oxidação lipídica de formulações de *fishburger* contendo polpa de subprodutos da filetagem durante 120 dias a  $-10$  e  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALESSON-CARBONELL, L., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., PÉREZ-ALVAREZ, J. A., KURI, V. Characteristics of beef burger as influenced by various types of lemon albedo. **Innovative Food Science Emerging Technology**. v. 6, p. 247-255, 2005.
- AL-KAHTANI, H. A. et al. Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in tilapia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, v. 91, p. 729-733, 1996.
- ANDRADE, D. A., VISENTAINER, V. J., MATSHUSHITA, M. DE SOUZA, E. Omega-3 fatty acids in baked fresh-water. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. v. 47, n. 1, p. 73-76, 1997.
- ARRUDA, L. F. **Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) para a obtenção de silagem e óleo como subprodutos**. 2004. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- AUBOURG, S. P. Lipid damage detection during the frozen storage of an underutilized species. **Food Research International**. v. 32, p. 497-502, 1999.
- AUBOURG, S. P., MEDINA I., GALLARDO, J. M. Quality Assessment of Blue Whiting (*Micromesistius poutassou*) during Chilled Storage by Monitoring Lipid Damages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 46, n. 9, p. 3662-3666, 1998.
- BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potencial uses. **Food Chemistry**. v.99, p. 191-203, 2006.
- BALDISEROTTO, B., RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundia**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2004, 227p.
- BALDISSEROTTO, B. Silver catfish culture. **World Aquaculture**, v. 35, p.65–67, 2005.
- BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., THONGKAEW, C., TANAKA, M. Effect of frozen storage on chemical and gel-forming properties of fish commonly used for surimi production in Thailand. **Food Hydrocolloids**. V. 19, p. 197–207, 2005.

BERARDINE, N., KNÖDLER, M., SCHIEBER, A., CARLE, R. Utilization of mango peels as a source and polyphenolics. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.6, p.442 – 452, 2005.

BUEGE, J. A., AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**. v. 52, p. 302-310, 1978.

BRUSCHI, F. L. F. **Rendimento, composição química e perfil de ácidos graxos de pescados e seus resíduos: uma comparação.** 2001. 65f. Trabalho de conclusão (Graduação em Oceanografia) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2001.

CARNEIRO, P., MIKOS, J. D., BENDHACK, F. Processamento: o jundiá como matéria-prima. **Panorama da Aqüicultura**. p. 17-21, 2003.

COLDEBELLA, I. V., RADÜNZ NETO, J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**. v.32, n.3, p. 499-503, 2002

COPATTI, C. E., COLDEBELLA, I.J., GARCIA, L.O., DA ROCHA, M. C., BALDISSEROTO, B. Effect of dietary calcium on growth and survival of silver catfish fingerlings, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae), exposed to different water pH. **Aquaculture nutrition**. v. 11, p. 345-350, 2005.

CHAPMAN, R. A., MACKAY, K. The estimation of the peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method. **The Journal of the American Oil Chemists Society**. p. 330-363, 1949.

CHOE, E., MIN, D. B. Chemistry and reactions of reactive oxygen species in food. **Journal of Food Science**. v. 70, n. 9, p. 142-159, 2005.

ERICKSON, A. C. Lipid oxidation: Flavor and nutritional quality deterioration in frozen foods. In: ERICKSON, A. C., HUNG, Y. **Quality in frozen food**. Ed. Chapman & Hall: New York, 1997, cap. 9, p. 141-173.

FAO/WHO. Food and Aquacultural Organization of the UN/ World Health Organization. **Codex standard for quick frozen blocks of fish fillet, minced fish flesh and mixtures of fillets and minced fish flesh.** Codex Stan 165-1989 (rev. 1 - 1995) Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net>>. Acesso em: 28 de jan. de 2007.

FAO. Food and Aquacultural Organization of the UN **Síntesis regional del desarrollo de la acuicultura**: 1. América latina y el caribe, FAO Fisheries Circular No. 1017/1., 194f, Rome, 2005.

FAO. Food and Aquacultural Organization of the UN. **State of world aquaculture**: FAO Fisheries Technical Paper, n.500, 145f, Rome, 2006.

FAOSTAT. Food and Aquacultural Organization of the UN. Food and Agricultural Statistics in support of Development Statistical Base, 2007 Disponível em:  
<<http://faostat.fao.org/default.aspx>> Acesso em: 28 jan. 2007.

FAUCONNEAU, B., ALAMI-DURANTE, H., LAROCHE, M., MARCEL, J., VALLOT, D. Growth and meat quality relations in carp. **Aquaculture**. v.129, p. 265-297, 1995.

FENNEMA, R. O. **Química de los Alimentos**, third ed., Acríbia S. A., Zaragoza, Spain., 2000, 1258p.

FRACOLOSSI, D. M., ZANIBONI FILHO, E., MEURER, S. No rastro das espécies nativas. **Panorama da aqüicultura**. p. 43-49, 2002./

GIL, M. I., TOMÁS-BARBERÁN, F. A., HESS-PIERCE, B., KADER, A. A. Antioxidant capacity, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, n. 17, p. 4976-4982, 2002.

GÓMEZ, M. E. D. **Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta**. I. Estabilidade oxidativa. 2003 – Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

HE, Y., SHAHIDI, F. Antioxidant activity of green tea and its catechins in a fish meat model system. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 45, n. 11, p. 4262-4266, 1997.

HORROCKS, L. A., YEO, Y. K. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). **Pharmacological Research**, v. 40, n.3, p.211-225, 1999.

HUANG, D., OU, B., PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.



JESUS, R. B., LESSI, E., TENUTA-FILHO, A. Estabilidade química e microbiológica de “*minced fish*” de peixes amazônicos durante o congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 21, n. 2, p. 144-148, 2001.

KANG, H. J., CHAWLA, S. P., JO, C., KWON, J. H., BYUN, M.W. Studies on the development of functional power from citrus peel. **Bioresource Technology**. v. 97, n. 4, p. 614-620, 2006.

KHALIL, A. H. Quality characteristics of low-fat beef patties formulated with modified corn starch and water. **Food Chemistry**. v. 68, p. 61-68, 2000.

KHALIL, A. H., MANSOUR, E. H. Control of lipid oxidation in cooked and uncooked refrigerated carp fillets by antioxidant and packaging combinations. **Journal of Agricultural and Food Science**. v. 46, n. 6, p. 651-657, 1998.

KIM, S., MENDIS, E. Bioactive compounds from marine processing byproducts – A review. **Food Research International**, v. 39, p. 383–393, 2006.

LAZZARI, R., RADÜNZ NETO, J., EMANUELLI, T., PEDRON, F. A., COSTA, M. L., LOSEKANN, M. E., CORREIA, V., BOCHI, V. C. Diferentes fontes protéicas para a alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.240-246, 2006.

LIU, M., WALLMON, A., WALLIN, R., SALDEEN, T. Effects of stable fish oil and simvastatin on plasma lipoproteins in patients with hyperlipidemia. **Nutrition Research**. v. 23, p. 1027–1034, 2003.

LOPES, M. M., MÁRSICO, E. T., SOBREIRO, L. G., SILVA L. P., CONTE-JÚNIOR C. A., PARDI, H. S., MANO S. B. Efeito da embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias (RPCV)**. v. 99, n. 552, p. 207-210, 2004.

LOSEKANN, M. E. **Produção de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo óleos de arroz, canola ou soja**. 2006. 46f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

LOWRY, R. R., TINSLEY, I. J. Rapid colorimetric determination of free fatty acids. **Journal of the American oil chemists society**. v. 53, p. 470-472, 1976.

MAHATTANATAWEE, K., MANTHEY, J. A., LUZIO, G., TALCOTT, S. T. GOODNER, K., BALDWIN, E. A. Tropical antioxidant and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, p. 7355-7363, 2006.

MATHAÜS, B. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, n. 12, p. 3444-3452, 2002.

MADHAVI, D. L., DESPANDE, S. S., SALUNKHE, D. K. **Food Antioxidants: technological, toxicological and health perspectives**. New York:Marcel Dekker, Inc.; Hong Kong: Ed., 1995, 490p.

MELO, J. F. B., RADÜNZ NETO, J., SILVA, J. H. S., TROMBETTA, C. G. Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídeos. **Ciência Rural**. v. 32, n. 2, p. 323-327, 2002.

MEYER, G., FRACOLOSSI, M. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. **Aquaculture**. v. 240, p. 331-343, 2004.

MOLLER, J. K. S., MADSEN, H. L., AATONEN, T., SKIBSTED, L.H. Dittany (*Oridanum dictamnus*) as source of water extractable antioxidant. **Food Chemistry**. v. 64, p. 215-219, 1999.

MORALES-UCLUA, D. F., OETTERER, M. Bioconversão de resíduos da indústria pesqueira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.15, n. 1, p. 206-214, 1995.

NIELSEN N. S., GÖTTSCHE J. R., HOLM, J., XU, X., MU H., JACOBSEN, C. Effect of structured lipids based on fish oil on the growth and fatty acid composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**. v. 250, n. 1-2, p. 411-423, 2005.

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

OETTERER, M., REGITANO-D'ARCE, M. A. B., SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri, SP: Manole, 2006, 612p.

OLIVEIRA, G. F. **Composição dos ácidos graxos da fração lipídica de resíduos industriais da pesca**. 2002. 40f. Trabalho de conclusão (Graduação em Oceanografia) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2002.

OLIVEIRA, E. R. D., AGOSTINHO, A. A., MATSUSHITA, M. Effect of biological variable and capture period on proximate composition and fatty acid composition of the dorsal muscle tissue of *Hypophthalmus edentatus* (Spix, 1829). **Brazilian archives of biology and technology**. v.46, n. 1, p. 105-111, 2003.

PAZOS, M., GONZALEZ, M. J., GALLARDO, J. M., TORRES, J. L., MEDINA, I. Preservation of the endogenous antioxidant system of fish muscle by grape polyphenols during frozen storage. **European Food Research Technology**. v. 220, p.514–519, 2005.

PAZOS, M., ALONSO, A., FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J., TORRES, J. L., MEDINA, I. Physicochemical properties of natural phenolics from grapes and olive oil byproducts and their antioxidant activity in frozen horse mackerel fillets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, n. 2, p. 366-373, 2006.

PEROSA, J. M. Y., PIERRE, F. C. Técnicas de pós-colheita e expansão da cultura da manga no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 24, n. 2, p. 381-384, 2002.

PRENTICE, C., SAINZ, R. L. Cinética de deterioração apresentada por filés de carpa–capim (*ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sob diferentes condições de refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, n. 1. p. 127-131.

RABABAH, T. M., EREIFEJ, K. L., HOWARD, L. Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and color in fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, n. 11, p. 4444-4447, 2005.

RASOARAHONA, J. R. E., BARNATHAN, G., BIANCHINI, J., GAYDOU, E. M. Annual evolution of fatty acid profile from muscle lipids of the common carp (*cyprinus carpio*) in madagascar inland waters. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, n. 24, p. 7339-7344, 2004.

RECKNAGEL, R. O., GLEND, E. A. Jr. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. **Methods in Enzimology**. v. 105, p. 331-337, 1984.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Deterioração de lipídeos. In: OETTERER, M., REGITANO-D'ARCE, M. A. B., SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri, SP: Manole, cap. 6, p. 243-299., 2006.

REY, A. I., HOPIA, A., KIVIKARI, R., KAHKONEN, M. Use of natural food/plant extracts: cloudberry( *Rubus Chamaemorus*), beetroot (*Beta Vulgaris* “*Vulgaris*”) or willow herb

(*Epilobium angustifolium*) to reduce lipid oxidation of cooked pork **LWT**. v. 38, p. 363–370, 2005.

RICE-EVANS, C. A., MILLER N. J., PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RIVELLESE, A. A., MAFFETTONE, A. , VESSBY, B. , UUSITUPA, M. , HERMANSEN, K. , BERGLUND, L. , LOUHERANTA, A. , MEYER, B. J. , RICCARDI, G. Effects of dietary saturated, monounsaturated and n-3 fatty acids on ] fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects **Atherosclerosis**. v. 167, p.149-158, 2003.

ROMVÁRI, R., HANCZ, C. S., PETRÁSI, Z. S., MOLNÁR, T., HORN, P. Non invasive measurement of fillet composition of four freshwater fish species by computer tomography. **Aquaculture International**. v.10, p. 2031-240, 2002.

SANT'ANA, L.S., MANCINI-FILHO, J. Influence of the addition of antioxidants in vivo on the fatty acid composition of fish Fillets. **Food Chemistry**. v. 68, p. 175-178 ,2000.

SANTOS-YAP, E. E. Fish and seafood. In. JEREMIAH, L. E. **Freezing effects on food quality**. New York:Marcel Dekker, Inc.; Hong Kong: Ed., cap. 4, p.109-133, 1995.

SÁNCHEZ-ALONSO, I., . JIMÉNEZ-ESCRIGM, A, SAURA-CALIXTO, F., BORDERÍAS A.J. Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. **Food Chemistry**. v. 101, p. 372–378, 2007.

SEABRA, L. M. J., ZAPATA, J. F. F. Fécula de mandioca e farinha de aveia como substitutos de gordura na formulação de hambúrgueres de carne ovina. **Ciência. Tecnologia de Alimentos**. v. 22, n. 3, p. 244-248 , 2002.

SEBBEN, C. L., BEIRÃO, L. H., MEINERT, E. M., TEIXEIRA, E., DAMIAN, C. Rendimento e avaliação sensorial de hambúrgueres de carpa (*cyprinus carpio*) com diferentes condições de processamento e armazenagem sob congelamento. **Boletim do CEPPA**, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2000.

SEBRANEK, J.G., SEWALT, V.J.H., ROBBINS, K.L., HOUSER, T.A. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. **Meat Science**. v. 69, p.289–296, 2005.

SEHGAL, H. S., SEHGAL, G. K. Aquacultural and socio-economic aspects of processing carps into some value-added products. **Bioresource Technology**. v. 82, p. 291-293, 2002.

SIDDAIAH, D., REDDY, V. S., RAJU, C. V., CHANDRASEKHAR, T. C. Changes in lipid, proteins and kamoboko forming ability of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) mince during frozen storage. **Food Research International**. v. 34, p. 47-53, 2001.

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

SIMOPOULOS, A. P. Evolutionary aspects of omega-3 fatty acids in the food supply. **Prostaglandines, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**. v. 60, n. 5/6, p. 421-429, 1999.

SIMOPOULOS, A. P., LEAF, A., SALEM Jr., N. Workshop statement on the essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. **Prostaglandines, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**. v. 63, n. 3, p. 119-121, 2000.

SOONG, Y-Y., BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**. v. 88, p. 411-417, 2004.

SOONG, Y-Y., BARLOW, P. J. Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. **Food Chemistry**. v. 97, p. 524-530, 2006.

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

STRYER, L. **Bioquímica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; Nova York:W. H. Freeman and Company, 1994, p.1000.

SUARÉZ-MAHECHA, H., FRANCISCO, A., BEIRÃO, L. H., BLOCK, J. M., SACCOL, A., PARDO-CARRASCO, S. Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. **Boletim do Instituto da Pesca**. v. 28, n.1, p. 101-110, 2002.

TALCOTT, S. T., PERCIVAL, S. S., PITTET-MOORE, J., CELORIA, C. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 51, n. 4, p. 935-941, 2003.

TANG, S. T., KERRY, J. P., SHEEHAN, D., BUCKLEY, D. J., MORRISSEY, P. A. Antioxidant effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. **Food Research International** v. 34, p. 651-657, 2001a.

TANG, S., SHEEHAN, D., BUCKLEY, D. J., MORRISSEY, P. A., KERRY, J. P. Antioxidant activity of added tea catechins on lipid oxidation of raw minced red meat, poultry and fish muscle. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 36, p. 685-692, 2001b

TOKUR, B., POLAT, A., OZKÜTÜK, S., BEKLEVIK G. Changes in the quality of fish burger produced from tilapia (*Oreochromis niloticus*) during frozen (-18°C). **European Food Research Technology**. v. 218, p. 420-423, 2004.

TOKUR, B., OZKÜTÜK, S., ATICI, E., OZYURT, G., OZYURT, C. E. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18°C). **Food Chemistry**. 99, n. 2, p. 335-341, 2006.

UNDELAND I., EKSTRAND B., LINGNERT H. Lipid Oxidation in Minced Herring (*Clupea harengus*) during Frozen Storage. Effect of Washing and Precooking. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 46, n. 6, p. 2319-2328, 1998.

VISENTAINER, J. V. **Composição de ácidos graxos e quantificação dos ácidos graxos LNA, EPA e DHA no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*), submetidas a diferentes tratamentos com óleo de linhaça**. 2003. 192f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

YERLIKAYA, P., GOKOGLU, N., URAN, H. Quality changes of fish patties produced from anchovy during refrigerated storage. **European Food Research Technology**. V. 220, p. 287-291, 2005.

ZENEBE, T., AHLGREN, G., GUSTAFSSON, I-B, BOBERG, M. Fatty acid and lipid content of *Oreochromis niloticus* L. in Ethiopian lakes - dietary effects of phytoplankton. **Ecology of Freshwater Fish**. v. 7, p. 146-158, 1998.

**ANEXO 1 - Normas exigidas pela revista Bioresource Technology, disponível em:**

**[http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws\\_home/405854/authorinstructions#Text](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/405854/authorinstructions#Text)**

### **Manuscript Preparation:**

#### *General:*

Editors reserve the right to adjust style to certain standards of uniformity. Original manuscripts are discarded one month after publication unless the Publisher is asked to return original material after use. An electronic copy of the manuscript on disk should accompany the final accepted version. Please use Word, Word Perfect or LaTeX files for the text of your manuscript. (For further information about LaTeX submission, please go to <http://www.elsevier.com/locate/latex>.)

#### *Structure:*

Follow this order when typing manuscripts: Title, Authors, Affiliations, Abstract, Keywords, Main text, Acknowledgements, Appendix, References, Vitae, Figure Captions and then Tables. For submission in hardcopy, do not import figures into the text - see Illustrations. The corresponding author should be identified with an asterisk and footnote. All other footnotes (except for table footnotes) should be avoided. Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article and do not include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise

#### *Text Layout:*

Use double spacing and wide (3 cm) margins on white paper. (Avoid full justification, i.e., do not use a constant right-hand margin.) Ensure that each new paragraph is clearly indicated. Present tables and figure legends on separate pages at the end of the manuscript. If possible, consult a recent issue of the journal to become familiar with layout and conventions. Number all pages consecutively, use 12 or 10 pt font size and standard fonts. If submitting in hardcopy, print the entire manuscript on one side of the paper only.

#### *Corresponding author:*

Clearly indicate who is responsible for correspondence at all stages of refereeing and publication, including post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.** Full postal addresses must be given for all co-authors. Please consult a recent journal paper for style if possible.

*Abstract:*

Each paper should be provided with an Abstract of about 100-150 words, reporting concisely on the purpose and results of the paper.

*Keywords:*

Immediately after the abstract, provide a maximum of ten keywords (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible.

*Symbols:*

Abbreviations for units should follow the suggestions of the British Standards publication BS 1991. The full stop should not be included in abbreviations, e.g. m (not m.), ppm (not p.p.m.), '%' and '/' should be used in preference to 'per cent' and 'per'. Where abbreviations are likely to cause ambiguity or not be readily understood by an international readership, units should be put in full.

*Units:*

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If, in certain instances, it is necessary to quote other units, these should be added in parentheses. Temperatures should be given in degrees Celsius. The unit 'billion' is ambiguous and must not be used.

*Maths:*

Authors should make clear any symbols (e.g. Greek characters, vectors, etc.) which may be confused with ordinary letters or characters. Duplicated use of symbols should be avoided where this may be misleading. Symbols should be defined as they arise in the text and separate Nomenclature should also be supplied.



*References:*

All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript.

Text: All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. Two authors: both authors' names and the year of publication;
3. Three or more authors: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: "as demonstrated (Allan, 1996a, 1996b, 1999; Allan and Jones, 1995). Kramer et al. (2000) have recently shown ...."

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters "a", "b", "c", etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2000. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51-59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 1979. *The Elements of Style*, third ed. Macmillan, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 1999. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281-304.

*Colour Costs and Queries:*

For colour illustrations, a colour printing fee is charged to the author per colour page. Further information concerning colour illustrations and costs is available from Author Support at [authorsupport@elsevier.ie](mailto:authorsupport@elsevier.ie), and at <http://authors.elsevier.com/locate/authorartwork>.

### *FREE ONLINE COLOUR*

If, together with your accepted article, you submit usable colour and black/white figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in colour on the web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. 'Usable' means the formats comply with our instructions. See the information about Illustrations at <http://authors.elsevier.com/locate/authorartwork>.

### *Tables:*

Tables should be numbered consecutively and given suitable captions and each table should begin on a new page. No vertical rules should be used. Tables should not duplicate results presented elsewhere in the manuscript (for example, in graphs). Footnotes to tables should be typed below the table and should be referred to by superscript lowercase letters.

### *Electronic Annexes*

We strongly encourage you to submit electronic annexes, such as short videos, computer-enhanced images, audio clips and large databases. Please refer to the Artwork Instructions (Multimedia files) at <http://authors.elsevier.com/locate/authorartwork> for details on file types to be used. If you are submitting on hardcopy, please supply 3 disks/CD ROMs containing the electronic annex to the editor for review. In the text of your article you may wish to refer to the annex. This is not mandatory, however, if you do wish to refer to the annex in the text then please do so using this example: "?see Electronic Annex 1 in the online version of this article." Production will insert the relevant URL at the typesetting stage after this statement.

### *Supplying Final Accepted Text on Disk:*

Once the paper has been accepted by the editor, an electronic version of the text should be submitted together with the final hardcopy of the manuscript. **The electronic version must match the hardcopy exactly.** We accept most wordprocessing formats, but Word, WordPerfect or LaTeX (see also <http://www.elsevier.com/locate/latex>) is preferred. Always

keep a backup copy of the electronic file for reference and safety. Label the disk with your name, the journal title and any software used. Save your files using the default extension of the program used. Electronic files can be stored on 3.5 inch diskette, ZIP-disk or CD (either MS-DOS or Macintosh).

**Notification:**

Authors will be notified of the acceptance of their paper by the editor. The Publisher will also send a notification of receipt of the paper in production.

**Copyright:**

All authors must sign the Transfer of Copyright agreement before the article can be published. This transfer agreement enables Elsevier to protect the copyrighted material for the authors, but does not relinquish the authors' proprietary rights. The copyright transfer covers the exclusive rights to reproduce and distribute the article, including reprints, photographic reproductions, microfilm or any other reproductions of similar nature and translations. Authors are responsible for obtaining from the copyright holder permission to reproduce any figures for which copyright exists. For more information please go to our copyright page <http://authors.elsevier.com/copyright>.