

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS



Dissertação

**Patê funcional de tambica (*Oligosarcus robustus*) e viola
(*Loricariichthys anus*): estabilidade oxidativa, qualidade microbiológica
e sensorial**

Patrícia Radatz Thiel
Bacharela em Química de Alimentos

Pelotas, 2023

Patrícia Radatz Thiel

**Patê funcional de tambica (*Oligosarcus robustus*) e viola
(*Loricariichthys anus*): estabilidade oxidativa, qualidade microbiológica
e sensorial**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de Orientação:

Profa. Dra. Ângela Maria Fiorentini

Dr. Cláudio Eduardo Dos Santos Cruxen

Prof. Dr. Wladimir Padilha da Silva

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

T431p Thiel, Patrícia Radatz

Patê funcional de tambica (*Oligosarcus robustus*) e viola (*Loricariichthys anus*) [recurso eletrônico] : estabilidade oxidativa, qualidade microbiológica e sensorial / Patrícia Radatz Thiel ; Ângela Maria Fiorentini, orientadora ; Cláudio Eduardo dos Santos Cruxen, Wladimir Padilha da Silva, coorientadores. — Pelotas, 2023.
100 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Pescado. 2. Probiótico. 3. Prebiótico. 4. Oxidação lipídica. 5. Segurança microbiológica. I. Fiorentini, Ângela Maria, orient. II. Cruxen, Cláudio Eduardo dos Santos, coorient. III. Silva, Wladimir Padilha da, coorient. IV. Título.

CDD 664.94

Patrícia Radatz Thiel

**Patê funcional de tambica (*Oligosarcus robustus*) e viola
(*Loricariichthys anus*): estabilidade oxidativa, qualidade microbiológica
e sensorial**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Data da Defesa: 28 de setembro de 2023.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Ângela Maria Fiorentini – Presidente

Doutora em Ciências dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina/UFSC

Adriana Dillemburg Meinhart – Membro

Doutora em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas

Isabela Schneid Kroning – Membro

Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas

Nádia Carbonera - Membro

Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal de Rio Grande

Dedico este trabalho a minha filha, meu
marido, aos meus pais e ao irmão.

Agradecimentos

Agradeço ao apoio da minha família pela força e carinho, em especial a minha filha, sem ela ao meu lado eu não conseguiria caminhar nem trilhar estes momentos.

A toda equipe do Laboratório de Processamento de Produtos de Origem Animal (LPOA), em especial a Khadija Bezerra Massaut, Maria Fernanda Fernandes Siqueira e Caroline Bierhals, e aos estagiários de iniciação científica Vitória Lopes Rocha e Pedro Fernandes Viana, pela paciência e dedicação, pelas palavras, apoio e ajuda que contribuíram para a realização da pesquisa, muito obrigada.

A minha orientadora Prof.^a Dra. Ângela Maria Fiorentini pela oportunidade e paciência, pelas conversas de apoio e força para o desenvolvimento do trabalho. Aos coorientadores prof. Dr. Wladimir Padilha da Silva e Dr. Cláudio Eduardo dos Santos Cruxen, pelas contribuições, foram de muita valia para a elaboração da pesquisa, meu muito obrigada a vocês.

À Daiane Machado Souza pela colaboração e fornecimento dos peixes, a Prof.^a Dra. Márcia Arocha Gularte pela colaboração e parceria na realização da análise sensorial, ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos por ceder espaço para as realizações de análises microbiológicas, ao LACEM, em especial a Dra. Helen Cristina dos Santos Hackbart por realizar às análises de compostos voláteis e ácidos graxos livres, muito obrigada.

A CAPES e o programa de Pós-graduação PPGCTA pela bolsa concedida, espero que mais pesquisas possam ser desenvolvidas e desempenhadas para que possamos crescer e progredir.

Resumo

THIEL, Patrícia Radatz. Patê funcional de tambica (*Oligosarcus robustus*) e viola (*Loricariichthys anus*): estabilidade oxidativa, qualidade microbiológica e sensorial. 2023. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

Os pescados são importantes componentes na alimentação humana, por fornecerem uma dieta rica em proteínas, micronutrientes e ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs). A composição química de patê de pescado é rica em PUFAs, tornando-se mais suscetíveis à oxidação lipídica, consequentemente, desenvolvendo aroma e sabor desagradável, em virtude de gerar compostos rançosos, que contribuirão para a presença de *off flavors*. Diante disso, o objetivo do estudo foi avaliar a estabilidade oxidativa, qualidade microbiológica e sensorial de patê de tambica (*Oligosarcus robustus*) e viola (*Loricariichthys anus*), contendo *Lactobacillus acidophilus* e frutooligossacarídeos, durante o período de armazenamento em refrigeração. Para o experimento, um delineamento estatístico inteiramente casualizado foi realizado, onde as análises de pH, acidez titulável, índice de peróxido (IP), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), determinação de ácidos graxos, compostos orgânicos voláteis (COV'S), contagem de bactérias psicrotróficas e aeróbias mesófilas, viabilidade de *L. acidophilus* LAFTI L10, avaliação dos parâmetros microbiológicos e análise sensorial foram organizadas em um esquema bifatorial, realizado com repetição biológica. As análises foram realizadas logo após o preparo dos patês (0 dia) e aos 15, 30, 45, e 60 dias de armazenamento refrigerado. Em ambos os patês ao longo do armazenamento ocorreu aumento da acidez e a redução do pH, quanto aos aspectos higiênico-sanitários em relação aos microrganismos patogênicos se mostraram satisfatórios, e quanto a qualidade microbiológica os aeróbios mesófilos mostrou-se uma contagem reduzida e ausência de psicrotróficos, e para a viabilidade do *L. acidophilus* manteve-se superior a $9 \log \text{UFC g}^{-1}$ até o final do período de armazenamento. Quanto as análises de IP, TBARS, ácidos graxos, compostos voláteis e análise sensorial, para o patê de tambica a oxidação não foi perceptível pelos painelistas, durante os 60 dias de armazenamento, corroborando assim com os resultados de 2,39 mEq/kg (IP) e 0,55 mg de MDA/kg (TBARS). Já no patê de viola, no tempo 45, foi perceptível pelos painelistas o sabor de ranço, corroborando com os resultados do IP de 4,6 mEq/kg e com a presença do composto nonanal (marcador de oxidação lipídica). Quanto aos ácidos graxos, o ácido araquidônico e o ácido α -linolênico no presente estudo apresentaram uma redução significativa em ambos os patês, quando analisado t0 e t60 no período de armazenamento, sinalizando oxidação lipídica, enquanto o ácido linoleico se manteve estável durante os 60 dias de armazenamento. Na análise de componentes principais (ACP) é possível inferir que aeróbios mesófilos (AM), sabor agradável (NT), undecano (V11), decanal (V12), e nonanal (V14) tiveram maior nível de contribuição em gerar os componentes principais. Houve atributos negativos relacionados a contagem microbiana, acidez e oxidação, entretanto, os índices foram baixos. Diante disso, conclui-se que é possível produzir um produto funcional à base de pescado com frutooligossacarídeos e *L. acidophilus* LAFT L10, seguro, com qualidade e estabilidade oxidativa pelo

período de 45 dias para o patê de viola e por 60 dias para o patê de tambica, com armazenamento em refrigeração.

Palavras-chaves: pescado, probiótico, prebiótico, oxidação lipídica, segurança microbiológica.

Abstract

THIEL, Patrícia Radatz. Functional fish pâté tambica (*Oligosarcus robustus*) and viola (*Loricariichthys anus*): oxidative stability, microbiological quality, and sensory quality. 2023. 100f. Dissertation (Master's in Food Science and Technology) – Graduate Program in Food Science and Technology, Department of Agroindustrial Science and Technology, Federal University of Pelotas, 2023.

Fish are important components in human nutrition, as they provide a diet rich in proteins, micronutrients, and polyunsaturated fatty acids (PUFAs). The chemical composition of fish pâté is rich in PUFAs, making it more susceptible to lipid oxidation, consequently developing an unpleasant aroma and flavor due to generating of rancid compounds contributing to off flavors. Therefore, the objective of the study was to evaluate the oxidative stability, the microbiological and sensory quality of tambica (*Oligosarcus robustus*) and viola (*Loricariichthys anus*) pâté, containing *Lactobacillus acidophilus* and fructooligosaccharides, during the refrigerated storage period. For the experiment, a completely randomized statistical design was carried out, where analyses of pH, titratable acidity, peroxide index (PI), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), determination of fatty acids, volatile organic compounds (VOCs), count of psychrotrophic and mesophilic aerobic bacteria, viability of *L. acidophilus* LAFTI L10, evaluation of microbiological parameters and sensory analysis were organized in a bifactorial scheme, carried out with biological repetition. The analyses were done immediately after preparing the pâtés (0 days) and at 15, 30, 45, and 60 days of refrigerated storage. In both pâtés, throughout storage, there was an increase in acidity and a reduction in pH. In terms of hygienic-sanitary aspects of pathogenic microorganisms, they were satisfactory, and in terms of microbiological quality, mesophilic aerobes showed a reduced count and absence of psychrotrophic, and the viability of *L. acidophilus* remained higher than $9 \log \text{CFU g}^{-1}$ until the end of the storage period. Regarding the analyzes of IP, TBARS, fatty acids, volatile compounds, and sensory analysis, for tambica pâté, oxidation was not noticeable by the panelists during the 60 days of storage, thus corroborating the results of 2,39 mEq/kg (IP) and 0,55 mg MDA/kg (TBARS). In the viola pâté, at time 45, the panelists noticed a rancid taste, corroborating the PI results of 4,6 mEq/kg and the presence of the nonanal compound (a marker of lipid oxidation). As for fatty acids, arachidonic acid, and α -linolenic acid in the present study showed a significant reduction in both pâtés when analyzed at t_0 and t_{60} in the storage period, signaling lipid oxidation, while linoleic acid remained stable during the 60 days of storage. In the analysis of principal components (PCA), it is possible to infer that mesophilic aerobes (AM), pleasant taste (NT), undecane (V11), decanal (V12), and nonanal (V14) had a higher level of contribution in generating the main components. There were negative attributes related to microbial count, acidity and oxidation; however, the rates were low. Therefore, it is concluded that it is possible to produce a functional product based on fish with fructooligosaccharides and *L. acidophilus* LAFT L10, safe, with quality and oxidative stability for 45 days for viola pâté and 60 days for pâté also, with refrigerated storage.

Keywords: fish, probiotic, prebiotic, lipid oxidation, microbiological safety.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulação com os percentuais de cada ingrediente, para a produção de patê pastoso de pescado.....	43
Tabela 2: Valores de pH e acidez de patês pastosos de viola e tambica, durante o armazenamento refrigerado	49
Tabela 3: Análises microbiológicas em patês pastosos de viola e tambica durante o armazenamento por 60 dias em refrigeração.....	52
Tabela 4: Análise do índice de peróxido (IP) e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em patês pastosos de viola e tambica durante o armazenamento por 60 dias em refrigeração.....	54
Tabela 5: Perfil de ácidos graxos em patê de tambica e viola, nos diferentes intervalos de tempo de armazenamento.	59
Tabela 6: Perfil de compostos orgânicos voláteis dos patês de tambica e viola, nos diferentes intervalos de tempo de armazenamento.....	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Imagens dos pescados (A) <i>Oligosarcus robustus</i> (tambica) (B) <i>Loricariichthys anus</i> (viola)	19
Figura 2 - Reações que ocorrem durante a auto oxidação dos lipídeos	31
Figura 3 Tempo 0 (A), tempo 15 (B), tempo 30 (C), tempo 45 (D) e tempo 60 (E) de patê de tambica, durante o armazenamento em refrigeração	66
Figura 4 - Tempo 0 (A), tempo 15 (B), tempo 30 (C), tempo 45 (D) e tempo 60 (E) de patê de viola, durante o armazenamento em refrigeração	67
Figura 5 - - Gráfico das variáveis (A) TBARS, aeróbios mesófilos, índice de peróxido, acidez, pH, compostos voláteis e análise sensorial sobre os efeitos da oxidação e gráfico das amostras (B) de patê de tambica (T) e patê de viola (V) nos respectivos tempos (0, 15, 30, 45 e 60) de armazenamento em refrigeração.....	70

SUMÁRIO

1.	Introdução Geral	14
2.	Objetivos	17
2.1.	Objetivo Geral	17
2.2.	Objetivos Específicos	17
3.	Revisão da literatura	18
3.1.	Pescados	18
3.1.1.	Patê de pescado	20
3.2.	Alimentos funcionais	22
3.2.1.	Probióticos	22
3.2.2.	Prebióticos	25
3.3.	Estabilidade dos produtos de pescado	28
3.3.1.	Oxidação lipídica	30
3.3.1.1.	Métodos analíticos para determinar a oxidação lipídica	32
3.3.1.1.1.	Índice de Peróxido	32
3.3.1.1.2.	Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS)	33
3.3.1.1.3.	Compostos voláteis	34
3.3.1.1.4.	Ácidos Graxos Livres	36
3.4.	Avaliação Microbiológica	37
3.5.	Avaliação Sensorial	40
4.	Material e Métodos	42
4.1.	Material	42
4.2.	Delineamento experimental	42
4.3.	Métodos	42
4.3.1.	Elaboração do patê	42
4.3.2.	Determinação de pH	44
4.3.3.	Determinação de acidez titulável	44
4.3.4.	Análises microbiológicas do patê de pescado	44
4.3.5.	Viabilidade da bactéria probiótica <i>L. acidophilus</i>	44
4.3.6.	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	45
4.3.7.	Índice de Peróxido	45

4.3.8.	Ácidos Graxos	46
4.3.9.	Compostos orgânicos voláteis (COV'S).....	46
4.3.10.	Análise Sensorial	47
4.3.11.	Análise estatística.....	48
5.	Resultados e Discussão.....	49
5.1.	pH e acidez titulável	49
5.2.	Análises microbiológicas.....	49
5.3.	Índice de Peróxido e TBARS	53
5.4.	Análise de ácidos graxos	55
5.5.	Identificação de compostos orgânicos voláteis.....	61
5.6.	Análise sensorial	65
5.7.	Análise de componentes principais.....	68
6.	Conclusão	72
7.	Referências	73
	Apêndices	86
	Anexos	93

1. Introdução

O pescado é um importante componente para a dieta humana por apresentar uma qualidade nutricional rica em proteínas, além de ácidos graxos poli-insaturados (ômega-3 e ômega-6) e micronutrientes (cálcio e fosforo, vitaminas A, D e complexo B) (MOHANTY *et al.*, 2016). Segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO, 2022), a alimentação saudável tornou-se uma tendência dominante na população em geral, de consumir alimentos com nutrientes essenciais, em um contexto de aumento do número de pessoas com obesidade e doenças relacionadas, em muitos países. Com base nisso, estudos demonstram que a ingestão regular de pescado pode exercer efeitos benéficos à saúde do consumidor, como a redução dos riscos de doenças cardiovasculares, depressão, ansiedade, hipertensão, asma, artrite, psoríase e diversos tipos de câncer (MACIEL *et al.*, 2015).

Além disso, os alimentos funcionais contendo probióticos e prebióticos estão sendo utilizados como uma alternativa à alimentação saudável. Os probióticos são microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002, HILL *et al.*, 2014). Os principais benefícios dos probióticos à saúde humana são, melhora no trânsito gastrointestinal, fortalecimento do sistema imune, devido às mudanças na microbiota intestinal, redução do colesterol, produção de ácidos graxos de cadeia curta, entre outros (AMBALAM *et al.*, 2016; MOSSO *et al.*, 2020).

Enquanto que prebióticos, são componentes alimentares não digeríveis que estimulam o crescimento de bactérias probióticas influenciando na diversidade da microbiota, bem como nas atividades metabólicas. Entre os prebióticos, os frutooligossacarídeos (FOS) fornecem benefícios como ativação do sistema imunológico e resistência a infecções (PUJARI *et al.*, 2021). Além disso, fornecem baixo teor calórico, desempenhando um papel importante na redução dos níveis de colesterol, triglicerídeos e fosfolipídios (DE LA ROSA *et al.*, 2019).

O desenvolvimento de novos produtos alimentícios, com propriedades funcionais, aceitação sensorial e produzidos a partir de matérias-primas de

baixo valor agregado e com ampla disponibilidade, é uma necessidade para as indústrias de alimentos se manterem competitivas, com o intuito de atender as demandas e tendências do mercado consumidor (CRUXEN *et al.*, 2021).

Diante disso, os pescados utilizados no estudo são de espécies nativas conhecidas popularmente por tambica (*Oligosarcus robustus* (Characidae)) e viola (*Loricariichthys anus* (Loricariidae)), encontram-se largamente distribuídos nas planícies costeiras do Brasil, Uruguai, Bolívia e Argentina (MENEZES, 1969; TAKAGUI *et al.*, 2014). Entretanto, muitas espécies de pescado são descartadas ou consumidas pelas famílias dos pescadores devido ao seu baixo valor comercial (CRUXEN *et al.*, 2021), ou muitas vezes seu consumo é reduzido pelo elevado número de espinhas (MANCERA-RODRIGUEZ *et al.*, 2022). Diante disso, há necessidade de buscar alternativas para o consumo desses pescados, como agregar valor com a produção de derivados.

Dentre os derivados de pescados, o patê é considerado um produto apreciado pelas características sensoriais, sendo possível obter alguns produtos comercialmente, principalmente, patês de salmão, atum e anchovas (MARTINS *et al.*, 2020). Nos últimos anos novos estudos têm sido desenvolvidos como, patê a base de pescado de caranha branca (MANCERA-RODRIGUEZ *et al.*, 2022), patê de salmão (CEDEÑO-PINOS *et al.*, 2022) e patê de tambica e viola (CRUXEN *et al.*, 2021) trazendo estratégias para valorizar o patê de pescado, como a obtenção de um produto funcional.

No entanto, pela característica da matéria-prima, a composição química de patês de pescado é rica em ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) tornando-os desta forma, mais suscetíveis à oxidação lipídica, consequentemente poderá desenvolver aroma e sabor desagradável ao longo do tempo de armazenamento (NIELSEN *et al.*, 2011). A combinação de enzimas microbianas e endógenas (proteases e lipases) causa a deterioração dos alimentos, como a oxidação lipídica (SORO *et al.*, 2021; BEKHIT *et al.*, 2021), responsável pela perda da qualidade e pelo desenvolvimento de *off-flavors* (CEDEÑO-PINOS *et al.*, 2022).

Nesse contexto, a qualidade microbiológica é de extrema importância, pois afeta a indústria alimentícia e o consumidor, podendo levar a perdas econômicas e aumentar os casos de intoxicação e infecção alimentar. Diante disso, a deterioração de alimentos pela atividade microbiana pode alterar a textura dos alimentos através da degradação de proteínas, carboidratos, lipídeos e os atributos sensoriais. O uso de combinações de processamento (pasteurização), juntamente com uma estratégia de higiene, como as boas práticas de fabricação (BPF), impede a proliferação de microrganismos deteriorantes de alimentos, inclusive os patógenos que afetam a segurança do produto (LORENZO *et al.*, 2018).

Além disso, os atributos sensoriais nos permitem monitorar o aparecimento progressivo dos compostos de oxidação lipídica e degradação microbiológica (ABEYRATHNE *et al.*, 2021). A análise sensorial é uma ferramenta essencial para o desenvolvimento de novos produtos, pois nos permite identificar pontos fracos e fortes do produto. Com painelistas treinados pode-se usar diversos métodos de análises, bem como o teste de dominância temporal das sensações (TDS), que nos permite avaliar uma sequência de sensações dominantes durante a degustação. Permitindo avaliar atributos importantes para cada estudo, como exemplo, oxidação lipídica, a percepção de crocância, percepção de salinidade (FUREY *et al.*, 2022; PINHEIRO *et al.*, 2013; ALBERT *et al.*, 2012).

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a estabilidade oxidativa, qualidade microbiológica e atributos sensorial, durante o armazenamento em refrigeração, de patês de *Oligosarcus robustus* (tambica) e de *Loricariichthys anus* (viola) com potencial probiótico e prebiótico contendo *Lactobacillus acidophilus* e frutooligossacarídeos.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a oxidação de lipídios por meio de análises de acidez, pH, TBARS e índice de peróxido, ao longo do tempo de armazenamento dos patês;
- Determinar a estabilidade lipídica dos ácidos graxos livres em patê ao longo do tempo de armazenamento;
- Determinar os compostos voláteis dos patês com direcionamento para compostos de oxidação lipídica, durante o período de armazenamento;
- Avaliar quanto a qualidade microbiológica (bactérias aeróbias mesófilas, psicrótróficas), e a viabilidade da bactéria probiótica, ao longo do tempo de armazenamento;
- Avaliar quanto aos padrões microbiológicos para patês, durante o período de armazenamento, segundo a legislação vigente;
- Avaliar através do método de dominância temporal das sensações (TDS) os patês ao longo do tempo de armazenamento, com painelistas treinados.

3. Revisão da literatura

3.1. Pescados

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA), considera-se como pescados os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, répteis, equinodermos e outros animais aquáticos de água salgada e doce usados na alimentação humana (BRASIL, 2020).

No século XXI, os setores de pesca (retirada de recursos pesqueiros do ambiente natural) e aquicultura (cultura de organismos aquáticos em um espaço confinado), cada vez mais, são reconhecidos pela sua segurança alimentar e nutricional. O consumo *per capita* de alimentos aquáticos de origem animal cresceu de uma média de 9,9 kg na década de 1960, para 20,5 kg em 2019 a nível mundial devido à retração da demanda. Durante as últimas décadas, o consumo *per capita* de alimentos aquáticos foi influenciado mais fortemente pelo aumento da oferta, mudanças nas preferências dos consumidores, avanços na tecnologia e crescimento da renda da população (FAO, 2022).

No Brasil, o consumo de pescados *per capita* é em média, de aproximadamente 10,5 kg/habitante/ano, abaixo do recomendado pela FAO (2022), que é de 12 kg/habitante/ano (SANTOS, 2022). E no Rio Grande do Sul o consumo de pescado no ano de 2013 foi de 2 kg/habitante/ano (BRASIL, 2013).

O Estado do Rio Grande do Sul tem um litoral com 622 km e vários lagos, rios, represas, lagoas costeiras e estuários (SANTOS *et al.*, 2014). As espécies nativas de peixes *Oligosarcus robustus* da família Characidae conhecido popularmente por tambica e *Loricariichthys anus*, da família Loricariidae, conhecida como viola, são largamente distribuídos nas planícies costeiras do Brasil, Uruguai, Bolívia e Argentina (TAKAGUI *et al.*, 2014). A tambica é descartada pelos pescadores quando capturada pelo seu baixo valor comercial, e a viola por muito tempo era guardada para o consumo da família ou descartada. Porém, a partir de 2006 a viola se tornou mais representativa na

pesca da Lagoa Mangueira (Santa Vitória do Palmar, RS, Brasil), tendo assim um valor comercial apreciável (SANTOS *et al.*, 2014).



Figura 1: Imagens dos pescados (A) *Oligosarcus robustus* (tambica) (B) *Loricariichthys anus* (viola)

Fonte: Autor, 2021

O peixe, é considerado um alimento saudável que fornece de 15 a 25% da ingestão de proteínas, micronutrientes (vitaminas e minerais) e uma fonte rica em ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) como ômega (ω)-3 (RYU *et al.*, 2021; MOHANTY *et al.*, 2019). Os PUFAs fornecem uma ampla gama de benefícios a saúde, como a proteção contra inflamação e doenças (GANESAN *et al.*, 2014), considerados assim, como uma classe de ácidos graxos essenciais necessários para a atividade biológica no organismo. Os PUFAs não são sintetizados pelo organismo humano, sendo os mesmos obtidos do consumo de derivados de peixes marinhos, como ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA) da família Ômega-3 (UENO *et al.*, 2019).

Diante disso, a relação de ω -3 e ω -6 em pescado pode variar devido ao habitat de água salgada e doce. Os peixes de água salgada apresentam uma relação de ω -3/ ω -6 alta, variando entre 5 a mais que 10. Sendo, uma variação caracterizada pela dieta dos peixes ricas em fitoplâncton marinhos com alto nível de PUFAS da série n-3. E os peixes de água doce são caracterizados pela alta concentração de ω -6, especialmente os ácidos linoléico e o ácido araquidônico (SOUZA *et al.*, 2007).

O consumo regular de pescado está associado à diminuição de doenças crônicas, portanto, no Brasil o consumo *per capita* de pescado é consideravelmente baixo (10,5 kg/habitante/ano), podendo ser refletida na baixa diversidade dos produtos à base de pescado (SANTOS, 2022). Entretanto, o consumo de pescado e de peixes com menor valor de mercado possibilita o uso e aproveitamento dos subprodutos para o enriquecimento nutricional de outros gêneros alimentícios, uma alternativa é a produção de patê, que se trata de um produto cozido pronto para o consumo (AQUERRETA *et al.*, 2002; FAO, 2022; SILVA *et al.*, 2022a).

Diante disso, muitas vezes os peixes de baixo valor são descartados por não ser considerado de qualidade para o consumidor, entretanto, se busca novas tecnologias para o uso deste pescado, transformando-o em produtos de maior praticidade e aceitabilidade, ou seja, produtos prontos ou semiprontos, como exemplo, almôndega, quibe, *snack*, conservas, empanados, embutidos, patê ou pasta, e entre outros produtos (RACIOPPO *et al.*, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2018).

3.1.1. Patê de pescado

O patê é considerado um produto importante, com tradições gastronômicas e sensoriais. Tradicionalmente, o patê é elaborado de fígado de ganso ou de vísceras de suíno, porém nos últimos anos novos produtos têm sido produzidos, especialmente os que incluem peixes como salmão, atum, corvina e anchova (MANCERA-RODRIGUEZ *et al.*, 2022; CRUXEN *et al.*, 2021). Esses produtos ampliam a variedade de patês, permitindo diferentes propriedades sensoriais e os benefícios nutricionais derivados do uso do pescado como matéria-prima.

No Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Patê, define-se patê ou pasta, como o produto cárneo industrializado obtido a partir de carnes e/ou produtos cárneos e/ou miúdos comestíveis, das diferentes espécies de animais de açougue, transformados em pasta, adicionado de ingredientes e submetidos a um processo térmico (cozido, pasteurizado, esterilizado) adequado (BRASIL, 2000).

Nos patês, os ingredientes obrigatórios são a carne e/ou miúdos, sal, e sais de cura (nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio). Entretanto, deverão conter no mínimo 30% da matéria-prima que o designa, exceto o de fígado cujo limite mínimo poderá ser de 20% (BRASIL, 2000).

Segundo Gonçalves (2011), os patês não são considerados emulsões verdadeiras, entretanto, os agentes emulsionantes, como a gordura, água e proteínas solúveis estão diretamente relacionados com a qualidade desta emulsão. Além disso, para Ferreira (2011) a qualidade pode ser influenciada pela utilização dos fosfatos para ligar a água, pelo tempo, temperatura e velocidade da homogeneização. A retenção de água e gordura está relacionada com a estabilidade das emulsões, onde ligações químicas e forças físicas atuam para obter uma textura final desejada e a integridade da suspensão coloidal antes, durante e depois do tratamento térmico.

O patê pode ser classificado como cremoso e pastoso, sendo o cremoso produzido com parte da matéria-prima crua e outra cozida, já o pastoso somente com matéria-prima cozida. Na produção deste produto, a homogeneização dos ingredientes é realizada com o equipamento tipo *cutter*, e essa massa pode ser embutida em envoltório natural ou artificial, ou ainda, ser acondicionada em vidros fechados hermeticamente, para posterior tratamento térmico (GONÇALVES, 2011).

Uma das estratégias de valorizar o patê de pescado, é a obtenção de um produto funcional. Inicialmente, a escolha do tipo de óleo é importante pois os consumidores exigem, cada vez mais, produtos alimentares mais saudáveis. Com base nisso, o estudo propôs usar óleo de girassol que é composto principalmente por ácido oleico (ω -9) (30%), linoleico (ω -6) (59%), esteárico

(6%) e palmítico (5%), além disso, contém vitamina E, carotenoides, ceras, lecitina e tocoferóis que trazem benefícios à saúde do consumidor como, propriedades funcionais, eficazes na prevenção de doenças humanas como diabetes, câncer, inflamatórias, hipertensão, hipercolesterolemia e doença coronariana (ADELEKE e BABALOLA, 2020).

No entanto, a estabilidade desse produto pode ser afetada por vários fatores, tais como atividade microbiana ou reações químicas. Os microrganismos mais encontrados em peixes são: coliformes, enterococos, estafilococos, sendo a principal fonte a manipulação, como também microrganismos (psicrotróficos e aeróbios mesófilos) que podem reduzir a vida útil do patê pela atividade proteolítica e lipolítica. Sendo assim, é importante o monitoramento dos parâmetros microbiológicos e os microrganismos deteriorantes com o intuito de proporcionar segurança e qualidade ao produto, respectivamente (MANCERA-RODRIGUEZ *et al.*, 2022). Quanto às reações químicas, durante o armazenamento sob refrigeração, podem ocorrer a deterioração química pela degradação dos lipídeos, associada principalmente com a lipólise e auto oxidação. Os principais agentes que envolvem esse processo são oxigênio e fração lipídica insaturada do pescado, que leva a formação de hidroperóxidos, formando o sabor de ranço. Assim, o uso de antioxidantes na elaboração de produtos de pescados se faz necessário, pois inibem ou retardam a oxidação aumentando a vida útil do produto (ALI *et al.*, 2019).

3.2. Alimentos funcionais

3.2.1. Probióticos

As bactérias ácido-láticas (BAL) são normalmente, utilizadas como culturas iniciadoras e possuem um longo histórico de aplicações na indústria de alimentos, pela produção de diferentes metabólitos, como ácidos orgânicos, etanol, compostos aromáticos, exopolissacarídeos e bacteriocinas (PENG *et al.*, 2020). Contribuem para o aumento da vida útil dos alimentos, através da diminuição do pH, podendo também modificar as propriedades sensoriais dos alimentos fermentados. Além disso, algumas cepas de BAL têm sido

adicionadas em alimentos por causa do seu potencial probiótico, onde fornecem benefícios ao consumidor (FREIRE *et al.*, 2021).

Os probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002; HILL *et al.*, 2014). Na última década, o mercado de alimentos probióticos tem sido cada vez mais intensificado, trazendo além de produtos lácteos (iogurtes, sorvetes, queijos), também sucos, bebidas, e formulações infantis (GU *et al.*, 2022).

Entretanto, em produtos à base de pescado são poucos estudos que avaliam a aplicação de probióticos. No estudo realizado por Porfírio (2020), na formulação de patê de peixe à base de pintado amazônico, foi adicionado juntamente com *Staphylococcus xylosus*, a bactéria probiótica *Pediococcus pentosaceus* atingindo 9,32 log UFC g⁻¹ no 24º dia de armazenamento. Enquanto Cruxen *et al.* (2021), formularam patês de pescados (*Oligosarcus robustus* e *Loricariichthys anus*) com potencial prebiótico e probiótico analisados por 45 dias de armazenamento o potencial probiótico, no modelo de regressão identificaram que até o 34º dia de armazenamento refrigerado, os produtos apresentaram contagens de *L. acidophilus* superiores de 6 log UFC g⁻¹. Já Guimarães *et al.* (2020), desenvolveram um doce probiótico à base de surimi, utilizando peixe de baixo valor comercial e a cultura probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, foi adicionada ao doce através da incorporação de um revestimento comestível de gelatina.

Os probióticos podem fornecer benefícios aos indivíduos, devido à sua capacidade de restaurar a microbiota intestinal (GU *et al.*, 2023), assim, é importante utilizar probióticos para tratamentos de doenças gastrointestinais, como diarreias, constipação, controle da obesidade, prevenção de diabetes, aumento da síntese de ácidos graxos de cadeia curta e modula a função imunológica para fornecer benefícios ao hospedeiro (TRIDIP *et al.*, 2022), também diminui a disposição de alergia alimentar (GU *et al.*, 2023) e outras doenças não associadas ao trato gastrointestinal como câncer colorretal (HENDLER e ZHANG, 2018), reduzindo a intolerância a lactose (OLIVEIRA *et al.*, 2022), controle dos níveis de colesterol (ISLAM *et al.*, 2022a), entre outros.

No desenvolvimento de produtos probióticos, Papadopoulou *et al.* (2018) sugerem que a cepa probiótica deve apresentar uma concentração superior a 6 log UFC g⁻¹ ao longo do período de armazenamento, e a maioria dos pesquisadores sugere que uma população de 6-7 log UFC g⁻¹ é necessária no momento do consumo do alimento.

Com relação a viabilidade dos microrganismos probióticos, muitos fatores podem influenciar como o processamento, armazenamento, manuseio, transporte e vida útil dos produtos probióticos. Além disso, os microrganismos probióticos precisam sobreviver após a sua ingestão, nas condições ácidas do estômago e aos sais biliares do intestino delgado, para atingirem a mucosa intestinal e fornecer seus benefícios para o consumidor. Diante do exposto, é essencial garantir uma alta taxa de sobrevivência dos probióticos durante a produção, bem como na vida útil do produto, a fim de manter a confiança do consumidor nos produtos probióticos (ASPRI *et al.*, 2020).

Os probióticos do grupo de BAL, mais utilizados pertencem ao gênero *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. cellobiosus*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, e *L. brevis*). No entanto, é importante destacar que o gênero *Lactobacillus* que compreende 261 espécies de diversos níveis fenotípicos, ecológicos e genotípicos, passou por uma reclassificação recentemente, e algumas espécies desse gênero tiveram sua nomenclatura alterada como, *Lacticaseibacillus casei*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Levilactobacillus brevis*, *Ligilactobacillus salivarius*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Limosilactobacillus reuteri*, enquanto as demais como *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. herveticus*, *L. johnsonii*, *L. gasseri* não tiveram alterações na nomenclatura (ZHENG *et al.*, 2020). Também bactérias não pertencentes ao grupo de BAL, como espécies do gênero *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. adolescentis*, *B. lactis*, *B. infantis*, *B. thermophilum*, e *B. longum*), são aplicadas em alimentos. A seleção de uma cepa probiótica, se deve a diversos critérios como segurança, aspectos tecnológicos, funcionais e fisiológicos (TYUTKOV *et al.*, 2022).

Lactobacillus acidophilus é uma bactéria homofermentativa, possui a capacidade de fermentar diversos carboidratos, principalmente glicose, lactose, e celobiose, com isso habitam ambientes com alta concentração de açúcares como o trato gastrointestinal. As condições ótimas para sua multiplicação são em temperaturas de 35 °C a 40 °C e valores de pH de 5,5 a 6,0 (FURTADO e FARIÑA, 2021).

Na saúde humana, o consumo de alimentos funcionais contendo *L. acidophilus* apresenta atividade não apenas para a modulação do trato gastrointestinal, mas também outras vantagens na melhora da resposta imune humoral, dos sintomas de pós-menopausa, no controle da hipertensão arterial, na redução do colesterol sérico, nos sintomas de asma, na melhora do quadro de dermatite atópica, e na utilização em transtornos de saúde mental como a depressão (FURTADO e FARIÑA, 2021).

Silva *et al.* (2022b) avaliaram *Lactobacillus acidophilus* (La-14) como cultura probiótica livre e em cápsulas probióticas variando em 6 tratamentos diferentes, além disso o estudo variou entre os tratamentos o uso de sal hipossódico em manteiga. O tratamento com culturas probióticas livres em 45 dias de armazenamento apresentaram 6 log UFC g⁻¹, já para as cápsulas com *L. acidophilus* apresentaram acima de 8,45 log UFC g⁻¹, em 45 dias de armazenamento. Enquanto Cruxen *et al.* (2021), analisaram por 45 dias de armazenamento o potencial probiótico do *L. acidophilus* em patê de pescado, sendo que com o modelo de regressão, identificou-se que até o 34º dia de armazenamento refrigerado, os produtos apresentaram contagens de *L. acidophilus* superiores de 6 log UFC g⁻¹.

3.2.2. Prebióticos

Prebiótico é um componente alimentar não viável, que confere um benefício à saúde do hospedeiro associado à modulação da microbiota (GIBSON *et al.*, 2017). São considerados quimicamente estáveis, em amplas faixas de temperatura e pH, e resistentes às ações hidrolíticas das enzimas intestinais (SINGH *et al.*, 2017).

A modulação dietética da microbiota intestinal por prebióticos é projetada para melhorar a saúde, estimulando os níveis de bactérias probióticas como *Bifidobacterium* sp. e *Lactobacillus* sp. (CUNNINGHAM *et al.*, 2021). Com uma microbiota intestinal considerada ótima, pode aumentar a resistência contra bactérias patogênicas (SINGH *et al.*, 2017), aumentar a estimulação da resposta imune (CUNNINGHAM *et al.*, 2021) e reduzir o risco de câncer de colón (MARKOWIAK e SLIZEWSHA, 2017). Além disso, o consumo de prebióticos também pode aumentar a biodisponibilidade de minerais nutricionalmente importantes, como cálcio, magnésio e ferro (SINGH *et al.*, 2017).

Os principais prebióticos utilizados em produtos alimentícios são inulina, frutooligossacarídeos (FOS), galactooligossacarídeos (GaOS), xilooligossacarídeos (XOS), lactitol, lactosacarose, lactulose, oligossacarídeos de soja, transgalacto-oligossacarídeos (TOS) (SINGH *et al.*, 2017; MARKOWIAK e SLIZEWSHA, 2017). Dentre estes, os frutooligossacarídeos (FOS) são os oligossacarídeos pertencentes ao grupo dos frutanos, composto por uma porção de glicose seguida por duas a nove unidades frutose ligadas por ligações glicosídicas β (2-1) ou β (2-6), por exemplo, 1-kestose (uma glicose e duas frutoses), nistose (uma glicose e três frutose) e frutofuranosil nistose (uma glicose e quatro frutose) (SINGH *et al.*, 2017; MACEDO *et al.*, 2020).

Os FOS são fibras estáveis, hidrossolúveis, capazes de suportar temperaturas até 140 °C e ainda pH entre 3 e 7. Sua capacidade de retenção de água é superior à da sacarose e não participa da reação de *Maillard* e de caramelização, por ser um carboidrato não-redutor (ROSA e CRUZ, 2017; MACEDO *et al.*, 2020). Ocorrem naturalmente em plantas como cebola, chicória, alho, soja, aspargo, banana, alcachofra, entre outros (RAHIM *et al.*, 2021).

Dentre suas características, apresentam baixas calorias, ajudando na redução do nível de colesterol, inibindo o crescimento de bactérias patogênicas e melhorando a absorção de minerais no intestino (SINGH *et al.*, 2017). Na indústria alimentícia tem aplicação em bebidas lácteas, doces, balas, sobremesas e geleias, com uso indicado em formulações dietéticas como

sorvetes, cremes vegetais, patês e sobremesas, adicionados em barras de cereais e biscoitos para elevar o conteúdo de fibras alimentares (ROSA e CRUZ, 2017).

A alta aplicabilidade de FOS na indústria alimentícia, se dá por suas características físico-químicas estáveis, diferente de outras fibras, que por não possuir sabor indesejável e não alterar a viscosidade dos produtos o desenvolvimento de alimentos ricos em fibras garantem ao produto característica semelhante ao original. Além disso, os FOS são altamente higroscópicos, sendo aplicado em alimentos para aumentar a umectância e diminuir a atividade de água, consequentemente assegura a estabilidade microbiológica (MACEDO *et al.*, 2020).

Estanech *et al.* (2020), avaliaram o efeito da adição da inulina e fécula de mandioca em patê de bicuda (*Sphyræna tome*) em relação a umidade, capacidade de retenção de água e textura. As variáveis de concentração de água, inulina e amido de mandioca influenciaram significativamente ($p < 0,05$) os parâmetros de textura, dureza, gomosidade, mastigabilidade e a capacidade de retenção de água.

A influência da adição de frutooligossacarídeos e duas cepas comerciais de probióticos (*L. paracasei* e *L. rhamnosus* GG) sobre diferentes parâmetros tecnológicos, microbiológicos e sensoriais foram avaliadas em salsicha com baixo teor de gordura. Verificando assim que uma diminuição de 29 % do teor de gordura com a adição do FOS não afetou suas características sensoriais, textura e cor trazendo uma nova estratégia para a produção deste produto (BIS-SOUZA *et al.*, 2020).

Buran *et al.* (2021) analisaram o perfil reológico, sensorial e volátil de kefir simbióticos produzidos a partir de leite de vaca e de cabra contendo probiótico (*L. acidophilus* e *B. bifidum*) usados individualmente em combinação com frutooligossacarídeos. Os resultados da combinação do *L. acidophilus* com FOS e leite de cabra teve um efeito melhor sobre o conteúdo de acetaldeído, viabilidade do probiótico e apreciação sensorial global das amostras no final do armazenamento, em relação a combinação do *B. bifidum* e FOS.

Em patê de tambica e viola com probiótico, prebiótico e frutooligossacarídeos adicionado em 10% fornece o correspondente a 4% de fibra diária necessária para uma dieta equilibrada. Sensorialmente, as formulações tiveram aceitação acima de 79,2%, e uma intenção de compra de 74,0% e 74,7% para os patês de tambica e viola, respectivamente (CRUXEN *et al.*, 2021).

3.3. Estabilidade dos produtos de pescado

A estabilidade de um alimento, é determinada pelo período de tempo no qual o alimento permanece seguro e adequado para o consumo em que são considerados aceitáveis pelo fabricante, consumidor e pela legislação vigente. Vários são os fatores que influenciam na estabilidade dos produtos, como fatores intrínsecos (nutrientes, pH, atividade de água) e fatores extrínsecos (temperatura, oxigênio, umidade). Com o entendimento da influência e interação desses fatores intrínsecos e extrínsecos, é possível aumentar a estabilidade dos produtos (ANVISA, 2018). A estabilidade de patês, pode ser influenciada por vários fatores em virtude da sua composição química principalmente, que possibilita o crescimento microbiano e as reações químicas, reduzindo a vida útil do produto.

Com base nisso, um conjunto de reações químicas, físicas, e microbiológicas podem ocorrer diminuindo a segurança e qualidade do produto. Para avaliar a deterioração que ocorre durante a vida útil são utilizados diversos procedimentos, como, análise de pH, avaliação de ácidos graxos, umidade, teor de gordura, proteínas, análises microbiológicas, avaliação oxidativa, entre outros. Além desses parâmetros, a avaliação das características sensoriais (aparência, odor, sabor e textura) com provadores treinados ou não, pode ser realizada como uma medida subjetiva dos primeiros parâmetros (SORO *et al.*, 2021).

O pescado *in natura* é marcado pela sua alta perecibilidade, podendo acarretar em modificações na cor, textura e odor devido suas características físico-químicas que promovem a atividade microbiana (ALEXANDRE *et al.*, 2021; SORO *et al.*, 2021). O patê de pescado pode apresentar vantagens nutricionais e uma alternativa para o consumo do pescado, no entanto, podem

ser mais suscetíveis à oxidação de lipídios e o desenvolvimento de *off-flavors* responsáveis pela perda da qualidade (CEDEÑO-PINOS *et al.*, 2022).

Os lipídios são componentes essenciais na qualidade dos produtos, pois contribuem com atributos como textura, sabor, perfil aromático, nutrição e densidade calórica (MOHAN *et al.*, 2022). Porém, são altamente oxidáveis, e a oxidação lipídica pode provocar a alteração de vitaminas, ácidos graxos essenciais, pigmentos, proteínas e das propriedades sensoriais (WU *et al.*, 2022a). A degradação dos ácidos graxos poli-insaturados, pode resultar em produtos residuais, como aldeídos (hexanal, pentanal), cetonas, álcoois (pentanol), hidroperóxidos, epóxidos e esteróis oxidados. Esse conjunto de deterioração é um processo irreversível que contribui para o desenvolvimento de características sensoriais inaceitáveis, como a formação do odor rançoso, mas também causam doenças, como inflamação, envelhecimento, câncer e aterosclerose, em humanos (ARYEE *et al.*, 2022).

Com base no exposto, a estabilidade oxidativa é um problema decisivo na qualidade de muitos alimentos processados. Uma alternativa para aumentar a estabilidade oxidativa é o uso de antioxidantes, que tem capacidade de inibir a oxidação lipídica, geralmente eliminando os radicais livres, decompondo peróxidos, diminuindo as concentrações locais de oxigênio ou desativando iniciadores de oxidação, aumentando assim, o tempo de armazenamento dos mesmos (NIETO e LORENZO, 2021).

Para acompanhar o desenvolvimento dessa oxidação realiza-se o teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que visa quantificar o malonaldeído (MDA) que é um dos principais produtos formados durante o processo oxidativo. Além da análise físico-química, pode ser realizada a análise sensorial que analisa e interpreta as respostas humanas às propriedades dos alimentos, a avaliação em relação ao tempo-intensidade (TI) e dominância temporal das sensações (TDS). A realização desta análise fornece aos painelistas a oportunidade de dimensionar a intensidade da oxidação lipídica percebida ao longo do tempo (PINHEIRO *et al.*, 2013; ABEYRATHNE *et al.*, 2021).

3.3.1. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é umas das principais causas de deterioração e perda de qualidade dos alimentos, dependendo dos mecanismos de reação e fatores envolvidos, pode ser dividida em auto oxidação, foto-oxidação e oxidação catalisada por enzimas. A auto oxidação trata-se de reações em cadeia, constituída pelas fases de iniciação, propagação e terminação, e que envolvem a produção de radicais livres (FOGAÇA e SANT'ANA, 2009; ABEYRATHNE *et al.*, 2021)

Na etapa de iniciação, ocorre a remoção de um átomo de hidrogênio de uma cadeia do ácido graxo (AG) produzindo um radical livre, sendo essa reação iniciada pela presença de catalisadores, tais como oxigênio singlete, pigmentos e decomposição de hidroperóxidos. Em seguida, o radical livre de AG reage com o oxigênio molecular, produzindo um radical peroxil ($\text{ROO}\cdot$). Nesta segunda etapa se dá a auto propagação, já que os radicais peroxil reagem com outros AG, formando mais radicais livres como parte de uma reação em cadeia (hidroperóxidos (ROOH) e um novo radical aquil). Os hidroperóxidos, quando decompostos por ação de aquecimento, luminosidade e metais, formam produtos secundários, dentre eles cetonas, aldeídos, álcoois capazes de participar na reação em cadeia dos radicais livres, levando à rancidez e ao aparecimento de *off-flavor*. A decomposição também leva à formação de radicais alcoxi (RO^*) e hidroxil (OH^*), que estão disponíveis para continuar reagindo e dar prosseguimento ao processo de oxidação. O término das reações individuais ocorre por meio da reação com outros radicais livres, o que resulta em compostos estáveis, conforme a Figura 1 (CAMPBELL-PLATT, 2015; MATTOS, 2017).

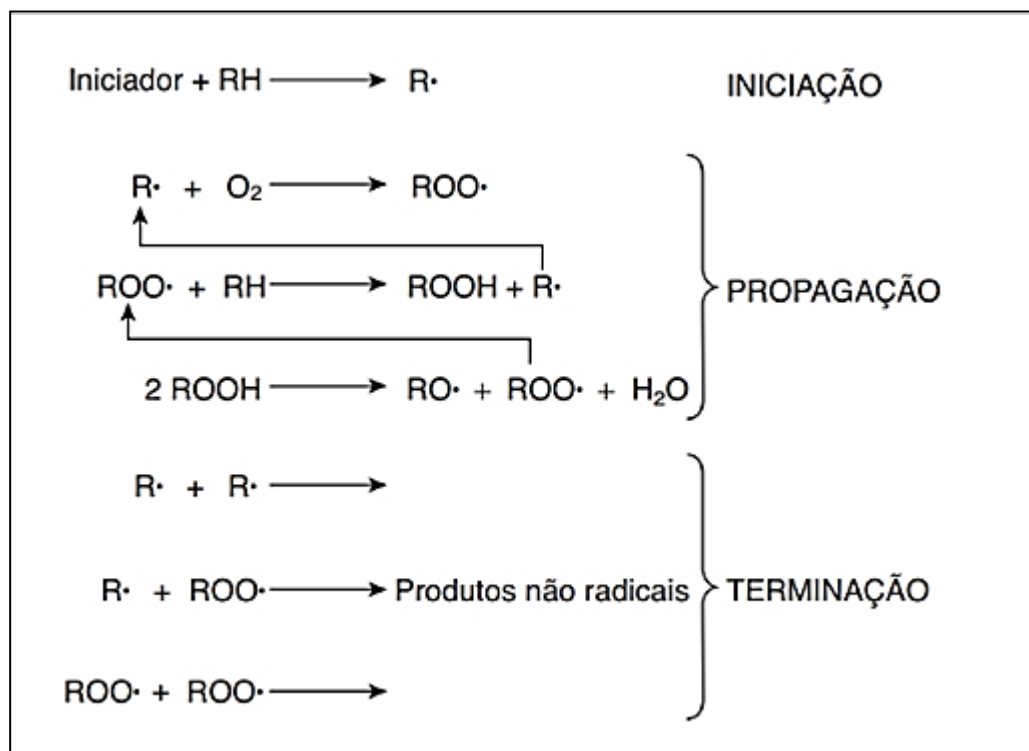


Figura 2 - Reações que ocorrem durante a auto oxidação dos lipídeos

Fonte: CAMPBELL-PLATT, 2015

A oxidação lipídica depende de muitos fatores externos e internos. Esses fatores podem desenvolver o ranço, uma produção de compostos responsáveis pelos *off flavors* e *off odors*. Esses tipos de reações não só diminuem a vida útil do produto como podem afetar o valor nutricional e gerar compostos prejudiciais à saúde, tais como os subprodutos hexanal, propanal, malonaldeído, 4-oxo-2-nonenal (4-ONE) e 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE). O subproduto da oxidação (4-ONE), é um potente modificador de produtos químicos e bioquímicos e é mais tóxico que o 4-HNE (ABEYRATHNE *et al.*, 2021; MOHAN *et al.*, 2022).

Como o patê possui elevado teor de gordura e baixo percentual de antioxidantes, resulta na degradação de ácidos graxos insaturados e geração de produtos residuais, como malonaldeído (MDA), levando à deterioração da qualidade nutricional e sensorial. Para evitar ou retardar a oxidação de lipídios, são acrescentados antioxidantes aos produtos alimentícios, portanto, sua capacidade de inibir as reações em condições adversas, como alta temperatura, pH extremo e luzes fortes podem ser afetadas. Diante disso, verifica-se a importância de determinar o nível de oxidação pois os lipídios são

considerados os principais parâmetros de análise da vida útil do produto (PINHEIRO *et al.*, 2020; ABEYRATHNE *et al.*, 2021).

3.3.1.1. Métodos analíticos para determinar a oxidação lipídica

Vários métodos químicos e instrumentais têm sido propostos através dos anos, para avaliar a qualidade e estabilidade de produtos quanto a oxidação lipídica. Os métodos utilizados para determinar a oxidação lipídica podem ser divididos em diretos (produtos primários e secundários) ou indiretos (método fluorométricos e avaliação sensorial). Os métodos mais utilizados para avaliar os produtos primários são índice de peróxido, dienos conjugados, e para os produtos secundários são TBARS e métodos cromatográficos (ABEYRATHNE *et al.*, 2021).

3.3.1.1.1. Índice de Peróxido

O índice de peróxido é considerado um método adequado para avaliação dos produtos primários da oxidação de lipídeos, os quais são compostos produzidos nas etapas de iniciação e propagação. Por se tratarem dos produtos iniciais da oxidação, eles podem aparecer precocemente na oxidação de lipídeos. No entanto, nas etapas mais avançadas da oxidação, as concentrações desses compostos diminuem, bem como suas taxas de formação que se tornam mais lentas que as de decomposição (DAMODARAM *et al.*, 2010).

Nos estágios iniciais da oxidação, ocorre o aumento dos hidroperóxidos, devido seu aumento ser maior do que a decomposição. Porém, esses compostos são altamente instáveis em estágios avançados de oxidação, sendo que a sua decomposição é maior do que sua formação, observando assim uma diminuição do teor de hidroperóxido (índice de peróxido). Diante disso, o seu baixo valor pode tanto apresentar oxidação inicial como avançada, tornando-se uma subestimação do grau de oxidação, entretanto, recomenda-se avaliar a evolução do valor de peróxido ao longo do tempo, para identificar o crescimento ou decréscimo da curva de concentração do hidroperóxido (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2019).

Os métodos mais utilizados são baseados no poder redutor (iodo ou ferro), onde necessita de uma extração prévia, naqueles onde se encontram os hidroperóxidos. A análise mais utilizada é a iodométrica, baseada na conversão do iodeto em iodo, promovida pelo hidroperóxido. A sua concentração está diretamente relacionada à liberação de iodo, que é medida pela titulação do tiosulfato de sódio na presença de amido como indicador. Os resultados são expressos em miliequivalentes (mEq) de oxigênio por kg de óleo, sendo 1 mEq é igual a 2 mmol de hidroperóxido (DAMODARAM *et al.*, 2010; DOMÍNGUEZ *et al.*, 2019).

Os valores de peróxido, tradicionalmente, estão entre 0 e 20 mEq/kg, indicando o valor baixo de IP na sua fase final deve coincidir com as altas concentrações de produtos secundários (aldeídos, cetonas, álcoois e ésteres), e os valores mais altos é possível detectar odor desagradável e rancidez (BELLAYER *et al.*, 2004).

3.3.1.1.2. Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A análise de TBARS é considerada para avaliar os produtos secundários da oxidação lipídica, formados a partir da decomposição de hidroperóxidos de ácidos graxos por reações de β -clivagem. Um dos principais produtos formados no processo oxidativo é o malonaldeído (MDA) sendo um aldeído produzido durante a quebra de ácidos graxos insaturados. O rendimento do MDA durante a oxidação de lipídeos depende da composição de ácidos graxos, sendo quanto mais insaturada maior quantidade de MDA é produzida. O TBA também pode reagir com outros aldeídos produzidos na oxidação, especialmente os aldeídos insaturados (ABEYRATHNE *et al.*, 2021; DAMODARAM *et al.*, 2010).

O teste de TBARS é considerado o principal para quantificar MDA, consiste numa medida colorimétrica de um complexo formado entre ácido tiobarbitúrico (TBA) e o MDA que oferece uma absorbância máxima em 532-535 nm, quantificando assim em espectrofotômetro. O limite aceito por diversos estudos varia em valores de 2-2,5 mg MDA/kg, para a formação do ranço (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2019)

3.3.1.1.3. Compostos voláteis

A composição de compostos voláteis fornece perfis de compostos aromáticos característicos, que são específicos para diferentes tipos de produtos. Compostos encontrados em produtos de pescados variam da espécie de pescado e das especiarias utilizadas na produção dos produtos, podendo conter compostos voláteis como, álcoois, aldeídos, alcanos, alcenos, ésteres, cetonas, pirazinas, compostos de enxofre, álcoois insaturados, aldeídos insaturados, entre outros (DUFLOS *et al.*, 2005).

Os compostos voláteis estão diretamente associados a aceitação dos alimentos pelos consumidores, diante disso, um dos parâmetros mais importante é o sabor e aroma, que está relacionado diretamente com a qualidade do produto. A qualidade do aroma do pescado muda rapidamente conforme seu grau de frescor, este odor característico está associado pelos compostos de aldeídos e cetonas, tende a mudar como resultado da ação enzimática e microbiana durante a deterioração (WU *et al.*, 2022b). Outrossim, compostos como terpenos sabineno, mirceno, limoneno, compostos sulfurados podem aparecer em produtos à base de pescado derivados dos condimentos, como da pimenta, alho, cebola e da páprica (GANDEMER *et al.*, 1999; STAHNKE *et al.*, 2001; BERGER e SCHMIDT, 1998).

Compostos voláteis, como hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas ou ácidos são resultantes da oxidação lipídica dos produtos primários. O pentano e o hexanal são os compostos que provêm da degradação do ácido linoleico e araquidônico, os quais fazem parte de uma grande variedade de produtos. Em pescados, frequentemente, são identificados odores terrosos e mofados que podem ser resultado de três vias, (i) compostos de odor existentes naturalmente no peixe (aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, furano, sulfeto e naftaleno), (ii) compostos gerados por reações microbianas (ácidos carboxílicos e compostos fenólicos) e enzimáticas (2,4,7-decadial) e (iii) compostos da autooxidação (aldeídos (heptanal, nonanal) e entre outros) (LIU *et al.*, 2021).

As moléculas de aldeídos podem ser observadas como indicadores do estado oxidativo e da contaminação microbiana de produtos. Segundo Stohr *et*

al. (2001), em salmão defumado foram observados que muitos microrganismos e as BAL são responsáveis pela produção de odores típicos como azedo, rançoso e sulfuroso. Odores desagradáveis (aminoácidos livres) podem estar relacionados aos produtos do metabolismo bacteriano, possivelmente, originários das principais vias catabólicas de lipídeos, carboidratos e aminoácidos, dentre eles, muitos compostos carbonílicos e precursores de aldeídos. Eles também podem constituir produtos de degradação de reações de oxidação de ácidos graxos e indicar o nível de alteração de um produto, porque frequentemente apresentam odores desagradáveis, no caso do pescado seria o propanal (VARLET *et al.*, 2007).

Nielsen *et al.* (2011), avaliaram o retardamento da oxidação lipídica em patê de pescado enriquecido de óleo de peixe onde observaram no estudo 1 (análise de voláteis usando CG/MS de *headspace* dinâmico) os produtos de oxidação secundária durante o armazenamento categorizado em dois grupos: um onde os voláteis aumentaram durante o armazenamento (1-penten-3-ol, 1-pentanol, 2-penten-2-ol, hexanal, 1-octen-3-ol e t,t-2,4-heptadienal) e um grupo onde quase nenhum desenvolvimento foi observado (nonanal e octanal). Já no estudo 2 (análise de voláteis usando CG/MS por microextração em fase sólida) foram detectados cinco aldeídos (2-butenal, hexanal, 2-hexenal, 4-heptenal e octanal) e um álcool (1-hexanol) e todas as amostras apresentaram níveis baixos de voláteis até a oitava semana, quando após esse período o teor de voláteis aumentou.

Cedeño-Pinos *et al.* (2022), avaliaram extrato de alecrim como antioxidante natural em patê de salmão formulado com linhaça, obtiveram um total de vinte compostos voláteis, incluindo vários hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos orgânicos e terpenos. No geral, a abundância de 1-pentanol e 1-hexanol aumentaram com o armazenamento a frio, enquanto, em contraste, a abundância de hexanal e 2-metil-propanal diminuíram no 42º dia. Esses quatro compostos voláteis, foram estudados como possíveis marcadores da oxidação lipídica no patê de salmão.

Os produtos voláteis de oxidação lipídica costumam ser avaliados por cromatografia gasosa com uso de injeção direta, *headspace*, estático ou

dinâmico ou microextração em estado sólido (SPME). A medição de compostos voláteis da oxidação lipídica tem como vantagens a alta correlação com a análise sensorial em comparação com produtos primários de oxidação (DAMODARAM *et al.*, 2010).

3.3.1.1.4. Ácidos Graxos Livres

Os ácidos graxos são encontrados em diferentes matrizes alimentares, como óleos vegetais, sementes, nozes, pescados, entre outros. Esses ácidos graxos podem ser divididos em quatro grupos, os saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA), poli-insaturados (PUFA) e gordura trans (TFA). (HEWAVITHARANA *et al.*, 2020).

Os peixes possuem ácidos graxos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados (PUFA). Entre os ácidos graxos poli-insaturados estão o ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5n-3) e ácido docosahexanóico (DHA, C22:6n-3) (ARIÑO *et al.*, 2013). Em patês de viola e tambica, foi encontrado maior abundância de ácidos graxos linoleico (C18:2n6c) e oleico (C18:1n9c), seguidos de ácido palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0) (CRUXEN *et al.*, 2021). Os ácidos graxos poli-insaturados e monoinsaturados têm como seus principais representantes o ácido linoleico e oleico, respectivamente. O ácido linoleico é considerado o PUFA mais abundante na dieta humana, e por ser um ácido graxo essencial não é sintetizado pelo organismo humano, diante disso, os ácidos graxos da família ω -3 e ω -9 precisam ser fornecidos pela alimentação (MARANGONI *et al.*, 2020).

Os alimentos que contém ácidos graxos insaturados, estão mais suscetíveis à oxidação lipídica, pela exposição prolongada ao oxigênio atmosférico e através das ligações duplas que quando ocorre o rompimento da cadeia de carbonos na zona dessa ligação, conseqüentemente, se dá a formação de aldeídos de cadeia curta, de sabor e odor desagradável (RÊGO, 2012).

Com base nisso, a peroxidação dos ácidos graxos insaturados pode gerar produtos da oxidação secundária, como alcanos, alcenos, aldeídos, cetonas e entre outros. Esses compostos podem reduzir o valor nutricional,

formar sabores indesejados e os radicais livres formados durante a oxidação podem participar do desenvolvimento da aterosclerose (ARAB-TEHRANY *et al.*, 2012).

Na oxidação não enzimática (autooxidação e fotooxidação), a peroxidação ω -6 PUFAS pode gerar os 4-hidroxi-2-nonenal (HNE) e na peroxidação ω -3 PUFAS pode gerar 4-hidroxi-2-hexanal (HHE), além de compostos derivados de aldeídos e alcanos. Neste processo de oxidação, os produtos não enzimáticos podem induzir no organismo do indivíduo o estresse oxidativo e inflamatório, isso quando os metabólitos estão em altas concentração no alimento consumido, no entanto em baixas concentrações, podem exercer efeitos antioxidantes. Os aldeídos, como o MDA e o HNE são considerados com uma alta toxicidade devido a sua capacidade de se reticular com proteínas e se ligar a ácidos nucleicos (ARAB-TEHRANY *et al.*, 2012; TAO, 2015).

Diante disso, é de extrema importância avaliar a oxidação lipídica no produto, pois além de deteriorar os alimentos com características inaceitáveis e perda de valor nutricional, a oxidação pode resultar em problemas de saúde (ARAB-TEHRANY *et al.*, 2012). Normalmente, a composição dos ácidos graxos é analisada por cromatografia gasosa-espectrometria de massa (CG-EM) devido às vantagens em eficiência, seletividade e custo (HEWAVITHARANA *et al.*, 2020).

3.4. Avaliação Microbiológica

O desenvolvimento microbiano está associado com mudanças sensoriais e físico-químicas no produto. O pescado, por possuir um elevado conteúdo de nutrientes (proteína e ácidos graxos poli-insaturados), fatores intrínsecos (alta atividade de água e pH próximo a neutralidade), e fatores extrínsecos (alto teor de umidade relativa), está mais propício para contaminação microbiana. A falta de condições ideais como refrigeração, manuseio e transporte, podem apresentar alterações indesejáveis que diminui o tempo de vida útil do produto (ALEXANDRE *et al.*, 2021). Entretanto, parâmetros como a temperatura, o tipo de embalagem, o tipo de processamento como salga e acidificação, ou tratamento térmico em

combinação, podem aumentar a vida útil dos produtos à base de pescado (ICMSF, 2015).

Além das combinações de processamento, o uso de estratégias de higiene, como as boas práticas de fabricação (BPF), o sistema de análises de perigos e pontos críticos de controle (APPCC), e de rastreabilidade da matéria-prima bem como do produto final podem prevenir a distribuição de alimentos de má qualidade, ajudando assim a conter a proliferação de microrganismos patogênicos e deteriorantes em alimentos (LORENZO *et al.*, 2018).

A deterioração de alimentos afeta a indústria alimentícia, bem como o consumidor, devido às perdas de alimentos comestíveis. Os microrganismos podem alterar a textura do alimento através da degradação de proteínas, carboidratos, lipídeos, e os atributos sensoriais, trazendo odores e sabores desagradáveis, produção de gases e diminuição do pH. Enquanto com os microrganismos patogênicos, a preocupação deve ser contínua na indústria de alimentos, a fim de garantir a segurança dos alimentos. Com uma combinação de processamento (tratamento térmico, pasteurização e entre outros) e com o uso adequado das boas práticas de fabricação é possível reduzir os surtos de doenças de origem alimentar (DTA) (LORENZO *et al.*, 2018).

Com base nisso, a Instrução Normativa nº 161 da ANVISA (BRASIL, 2022), estabelece como padrões microbiológicos para patê os microrganismos *Salmonella* sp., *Clostridium perfringens*, Estafilococos coagulase positiva e *Escherichia coli*. Entretanto, para microrganismos deteriorantes de alimentos como psicrotróficos e aeróbios mesófilos a legislação brasileira não estabelece parâmetros de contagem.

Os microrganismos aeróbios mesófilos, são capazes de se multiplicar entre 10 °C e 45 °C, sendo sua temperatura ideal de 30 °C (REZENDE *et al.*, 2021). O grupo destes microrganismos é formado pela família *Enterobacteriaceae*, além de algumas bactérias dos gêneros *Clostridium*, *Bacillus*, *Streptococcus* e *Lactobacillus* (SANTOS *et al.*, 2021). São capazes de produzir ácido lático, aumentar a acidez do produto e hidrolisar proteínas (BOZOGLU e ERLMEN, 2016). Além disso, esses microrganismos são os

indicadores microbiológicos da qualidade dos alimentos mais utilizados, indicando que as condições de limpeza, desinfecção e controle da temperatura durante os processos de tratamento industrial, transporte e armazenamento foram realizadas de forma adequada. Permite também informações sobre alterações indesejáveis nos alimentos, a refrigeração descontínua na cadeia produtiva ou o descongelamento do mesmo (REZENDE *et al.*, 2021).

Os psicrotróficos têm capacidade de crescer em temperaturas entre 5 a 35 °C, e a temperatura ótima de crescimento é entre 20 e 30 °C (SANTOS *et al.*, 2021). As principais bactérias psicrotróficas são *Alcaligenes*, *Alteromonas* e *Brochothrix*, e algumas espécies dos gêneros *Yersinia*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Serratia*, entre outros (BOZOGLU e ERLMEN, 2016). Uma alta contagem ($7 \log \text{UFC g}^{-1}$) contribui para a redução da vida útil dos produtos, devido as funções das atividades proteolíticas e lipolíticas, mesmo em condições refrigeradas (ALEXANDRE *et al.*, 2021; HARRIS e WILLIAMS, 2019). A deterioração do peixe *in natura* com odor característico desagradável pode ocorrer através da redução do óxido de trimetilamina que se forma através da ação de alguns microrganismos, como *Shewanella putrefaciens* (FORSYTHE, 2013).

Nos estudos de Anastácio *et al.* (2020), Ramires *et al.* (2020) e Kroning *et al.* (2016), encontraram bactérias patogênicas como *Estafilococos* coagulase positiva, *Escherichia coli* 0157:H7 e *Listeria monocytogenes* provenientes de sushis, produto pronto para o consumo, indicando assim que é necessário melhorar as boas práticas de higiene nos estabelecimentos de sushi, uma vez que estes microrganismos têm potencialidade de acarretar doenças ao consumidor.

Nesse contexto, é de extrema importância o monitoramento da qualidade microbiológica do pescado por meio da realização de pesquisa e enumeração regulares de microrganismos, para verificar a presença de patógenos e deteriorantes em pescado, com o intuito de promover a segurança e a qualidade dos alimentos, respectivamente (ALEXANDRE *et al.*, 2021).

3.5. Avaliação Sensorial

Na análise sensorial, a coleta e degustação de amostras ao longo do tempo permite monitorar o aparecimento progressivo dos compostos de degradação dos lipídios (ABEYRATHNE *et al.*, 2021). Trata-se de uma técnica que monitora de forma direta os aromas e sabores indesejáveis, gerados por reações de oxidação. Para identificar a oxidação de lipídeos, a análise sensorial deve ser realizada com painelistas, os quais devem ser treinados para a identificação de compostos formados em consequência da oxidação. O treinamento costuma ser específico para cada produto, uma vez que os produtos da oxidação de diferentes ácidos graxos podem produzir perfis sensoriais distintos (DAMODARAM *et al.*, 2010).

O estudo com análise sensorial nos permite a identificação de pontos fortes e fracos de um produto, tanto em nível físico-químico quanto sensorial, o que os torna uma ferramenta essencial para o desenvolvimento de novos produtos. O método aplicado com o uso do *software SensoMaker*, consiste em módulos que podem ser acessados na tela inicial do *software* e são capazes de realizar a aquisição de dados em estudos sensoriais. Os dados podem ser realizados em diferentes métodos, como a escala de categorias, escala linear, dominância temporal das sensações (TDS) e tempo-intensidade (TI) (PINHEIRO *et al.*, 2013).

No método de dominância temporal das sensações, *Temporal Dominance Sensation* (TDS), os painelistas registram uma sequência de sensações dominantes a qualquer momento durante a degustação da amostra do produto. O *software* possibilita ao pesquisador definir os atributos e o tempo da análise. Normalmente, as avaliações são realizadas entre 20 a 40 segundos, dependendo do tipo de produto (PINHEIRO *et al.*, 2013; SCHLICH e PINEAU, 2017).

Após a definição, o painalista é solicitado a clicar no botão iniciar, assim que tiver em contato com a amostra na boca, e a captura da dominância será realizada conforme o painalista for clicando nos botões na área do medidor de dominância (percepção mais marcante). Se o botão de qualquer gosto for ativado, é registrado o mesmo valor até que a nova sensação apareça e outro

botão de dominância seja clicado. Durante o teste, o painelista é livre para selecionar o mesmo atributo várias vezes. O resultado de cada painelista é salvo como arquivo de texto (TXT), que pode ser importado pelo módulo de análise apropriado no *SensoMaker* (PINHEIRO *et al.*, 2013; SCHLICH e PINEAU, 2017).

Albert *et al.* (2012), avaliaram a sensação dominante em cada ponto do processo de mastigação usando a técnica TDS, e compararam os dados obtidos pelo TDS com o perfil sensorial de atributos-chaves (KASP) de duas marcas de palitos de peixes empanados pré-cozidos congelados comerciais por diferentes processos de cozimento, como a fritura em gordura, forno elétrico convencional e o forno de micro-ondas. Os dados obtidos pela análise de KASP verificou que as amostras de micro-ondas ficaram menos crocantes do que as fritas e cozidas no forno, porém os dados TDS forneceram informações complementares, mostrando que o impacto inicial na boca foi crocante e suculento. Diante disso, as sensações registradas pelo método TDS foram quantitativamente iguais para todas as amostras, mas sua intensidade variou principalmente nos procedimentos de cozimento.

Furey *et al.* (2022), avaliaram sensorialmente patê de frutos do mar (a base de ovas, leite e fígado) por consumidores adolescentes, as curvas de TDS apresentaram dominância no paladar, ou seja, o sabor de peixe seguido da percepção de salinidade. Também foram perceptíveis sabor e pastosidade, mas não significativos.

4. Material e Métodos

4.1. Material

Os peixes tambica (T) (*Oligosarcus robustus*) e viola (V) (*Loricariichthys anus*) são procedentes da Lagoa Mangueira, Santa Vitória do Palmar (33° 09' 13"S e 52° 48' 45" W) (RS) - Brasil, capturados por pescadores licenciados para a pesca artesanal. Os pescados foram adquiridos em filés congelados e mantidos armazenados em -18 °C, até a produção do patê. O óleo de girassol (Liza®, Mairinque, São Paulo, Brasil), cloreto de sódio (Diana®, Curitiba, Paraná, Brasil), frutooligossacarídeos (FOSVITA®, Araçoiaba da Serra, São Paulo, Brasil), *Lactobacillus acidophilus* LAFTI L10 (GlobalFood®, São Paulo, São Paulo, Brasil), antioxidante (Doremus®, Guarulhos, São Paulo, Brasil), sal de cura B 002 (Bremil®, Arroio do Meio, RS, Brasil), fosfato de sódio (pH neutro) B024 (Bremil®, Arroio do Meio, RS, Brasil) e pimenta branca, alho, cebola e páprica foram adquiridos no mercado local.

4.2. Delineamento experimental

Para o experimento, um delineamento estatístico inteiramente casualizado foi realizado, onde as análises de pH, acidez titulável, determinação de ácidos graxos livres, TBARS, índice de peróxido, compostos voláteis, contagem de bactérias psicrótróficas e aeróbias mesófilas, viabilidade de *L. acidophilus* LAFTI L10, avaliação dos parâmetros microbiológicos e análise sensorial foram organizadas em um esquema bifatorial 2x5 (formulação e tempo). O experimento foi realizado com repetição biológica e as análises físico-químicas realizadas em triplicata, enquanto as análises microbiológicas, compostos voláteis, ácidos graxos livres, em duplicata.

4.3. Métodos

4.3.1. Elaboração do patê

A produção dos patês pastosos de pescados seguiu o procedimento utilizado por Aquerreta *et al.* (2002), com modificações segundo Cruxen *et al.* (2021). Os filés de pescados foram cozidos em água a $82\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 min, pesados e transferidos para um *cutter* (Sotronic®, Erechim, Rio Grande do Sul, Brasil), no qual 10% (p/p) de água do processo de cozimento e 4% de óleo de

girassol foram adicionados e a massa foi homogeneizada por 1 min. Na sequência, 10% (p/p) de água, sais de cura, condimentos, polifosfato, frutooligossacarídeos e 4% de óleo de girassol foram adicionados e, homogeneizados por 2 min no *cutter*. Finalmente, antioxidantes e fixador de cor, e 4% de óleo de girassol foram adicionados e homogeneizados, por mais 1 min. A quantidade de cada ingrediente é apresentada na Tabela 1. A pasta homogeneizada foi acondicionada em frascos de vidro e direcionados para banho-maria por 30 min a 60 °C, seguido de 30 min a 80 °C. Depois de resfriar a temperatura ambiente (± 25 °C), 0,25% *Lactobacillus acidophilus* Lafti L10 (liofilizado) foi adicionado com uma concentração inicial de $\sim 12 \log \text{UFC g}^{-1}$ no produto, em capela de fluxo laminar. Os frascos com os patês, foram fechados e armazenados a 4 °C, por até 60 dias.

Tabela 1 – Formulação com os percentuais de cada ingrediente, para a produção de patê pastoso de pescado

Ingredientes	Percentual (%)
Filé de peixe (Viola ou Tambica)	55,25
Água	20
Óleo de girassol	12
Frutooligossacarídeos	10
Cloreto de sódio	1,5
Antioxidante	0,35
Fosfato de sódio	0,25
Cebola	0,2
Sal de cura	0,15
Páprica	0,1
Pimenta branca	0,1
Alho	0,1
Total	100

4.3.2. Determinação de pH

A determinação do pH dos patês de pescado foi realizada com um medidor de pH nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento em refrigeração (AOAC, 2016a).

4.3.3. Determinação de acidez titulável

A acidez total titulável foi realizada através de titulometria, utilizando NaOH 0,1N e fenolftaleína como indicador de viragem nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento em refrigeração. Os resultados foram expressos em percentual de ácido láctico presente na amostra (AOAC, 2016b).

4.3.4. Análises microbiológicas do patê de pescado

As análises quanto ao aspecto higiênico-sanitário dos patês, preconizado pela Instrução Normativa nº 161/2022 (BRASIL, 2022), foram avaliadas em 0, 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento em refrigeração. Foi avaliada a presença de *Salmonella*/25g, e realizadas contagens de *Clostridium perfringens*/g, Estafilococos coagulase positiva/g, *Escherichia coli*/g, conforme APHA (2002).

No período de 0, 15, 30, 45 e 60 dias, os patês também foram avaliados quanto a determinação de microrganismos psicrotróficos e aeróbios mesófilos, relacionados com a deterioração do produto, conforme APHA (2002).

4.3.5. Viabilidade da bactéria probiótica *L. acidophilus*

A viabilidade de *L. acidophilus* Lafti L10, foi determinada nos dias 0, 15, 30, 45 e 60 de armazenamento em refrigeração. Dez gramas de amostra de cada patê foram homogeneizadas em 90 mL de água peptonada a 0,1% e posteriormente, foram preparadas as diluições decimais seriadas e 1 mL da suspensão foi inoculado em profundidade com o ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) e incubada a 37 °C por 72 h, sob condições anaeróbicas (APHA, 2002).

4.3.6. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), foram determinadas nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento em refrigeração, pelo método proposto por Raharjo, Sofos e Schimidt (1992), com modificações de Yildiz-Turp e Serdaroglu (2010): pesou-se 5 gramas de amostra e adicionou-se 0,5 mL de butil-hidroxitolueno alcoólico (BHT) 0,15%, e 20 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5%. Os tubos foram fechados, agitados em vortex por 2 minutos e a solução foi filtrada e obtida em balão volumétrico de 25 mL. O volume, do filtrado no balão, foi completado com TCA 5% até 25 mL. De cada balão, foi retirado três alíquotas (triplicata) de 3 mL, que foram colocados em tubos de ensaio com tampa e adicionadas de 3 mL de ácido tiobarbitúrico 0,08M (TBA). Os tubos foram aquecidos em banho-maria por 30 minutos a 80 °C, após resfriados por 10 minutos, e a absorbância foi lida em espectrofotômetro a 531nm. Um fator de conversão de 7,8 foi utilizado no cálculo e os resultados foram expressos como substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico em mg de malondialdeído (MDA)/kg de amostra.

4.3.7. Índice de Peróxido

A determinação do índice de peróxido (IP) foi realizada nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento em refrigeração pelo método da AOAC (2005), com modificações do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2013): a gordura foi extraída da amostra de patê (25g) com 50mL de éter de petróleo, agitados em agitador magnético por 10 minutos e centrifugados a 5000 rpm por 10 minutos, após foi realizado a filtração sobre sulfato de sódio anidro. A amostra foi concentrada removendo o éter de petróleo, com um evaporador rotativo a 60 °C. Amostras de gordura (2 g), foram dissolvidas em 30 mL de ácido acético glacial: clorofórmio (3:2, v/v). Em seguida, adicionou-se 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio (KI). A mistura foi agitada manualmente, por 0,5 min e então mantida no escuro por 3 min. Após adicionou-se 30 mL de água destilada, e a mistura foi titulada com tiosulfato de sódio (0,01N), até quase desaparecer a cor amarela. Em seguida, adicionou-se cerca de 0,5 mL de solução de indicador de amido (1%). A titulação

continuou até a cor azul desaparecer. O branco também foi analisado em condições semelhantes. Os resultados foram expressos em mEq/kg.

4.3.8. Ácidos Graxos

Para a análise de ácidos graxos nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento refrigeração foi pesado, aproximadamente, 1 g de patê de pescado, adicionando 2 mL de hexano e 2 mL de hidróxido de potássio, e a amostra foi homogeneizada em banho ultrassônico por 5 min, em seguida centrifugada (2 min, 4000 x g), em seguida coletando o sobrenadante. Para tal determinação, utilizou-se o método de cromatografia gasosa, o equipamento é acoplado com detector de ionização de chama CG-FID (Clarus 500, PerkinElmer®, Shelton USA) equipado com uma coluna capilar (30 m × 0,25 mm, 0,25 mm. Elite-1). As condições operacionais foram as seguintes: o gás de arraste (nitrogênio) teve uma taxa de fluxo constante de 1,5 mL/min, a rampa de temperatura iniciou com a coluna aquecida a 120 °C por 1 min, em seguida uma taxa de aquecimento de 15 °C/min até 160 °C mantido por 3 min, por fim uma taxa de aquecimento de 3 °C/min até 230 °C e mantida por 10 min. Foi utilizada como padrão, uma mistura composta de 37 ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) que variaram de C4:0 - C24:1 (FAME MIX GLC-10) (Supelco, Bellefonte, USA). Os ácidos graxos foram quantificados por abundância de área.

4.3.9. Compostos orgânicos voláteis (COV'S)

A amostra contendo os compostos orgânicos voláteis (COVs) nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento refrigeração foram preparadas usando o método de micro extração em fase sólida (HS-SPME) utilizando fibra de divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) (Supelco, 50/30 µm × 20 mm) pré-condicionada, conforme protocolo do fabricante. Para extração dos COVs, 1 mg de patê foi acondicionada em um frasco de 20 mL, em seguida, acrescentado 1 g de NaCl e 10 µL de solução padrão de benzofenona (2 µg), o frasco foi selado utilizando tampa de silicone revestidos com politetrafluoretileno. Os frascos selados, contendo a amostra, foram submersos em banho-maria a 40 °C por 15 min, posteriormente, a fibra foi exposta ao *headspace* por 15 min, sob agitação

constante. Os COVs foram quantificados e identificados usando um sistema de cromatografia em fase gasosa (CG) (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), equipado com um analisador de espectrometria de massas (CG-EM) (Shimadzu QP2010 UltraPlus, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) e coluna capilar Rxi-1MS (30 m × 0,32 mm × 0,25 µm, Restek U.S.).

A temperatura da rampa foi mantida a 40 °C por 5 min, aumentada para 50 °C a 3°C·min⁻¹, para 120°C a 5°C·min⁻¹, a 175°C a 7°C·min⁻¹ e, finalmente a 230°C a 10°C·min⁻¹ e mantido em condições isotérmicas por 8 min. A espectrometria de massa (MS) foi operada em modo de varredura completa (faixa de massa *m/z* 30 a 450). Os dados de CG-MS foram analisados usando LabSolution (GCMS solution Version 4.11 SU2). Os COVs foram identificados a partir da comparação dos índices de similaridade e espectro de massas, com o banco de dados do sistema do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST11), índice de retenção e índice de retenção calculado a partir de uma série homóloga de hidrocarbonetos C8-C40 (VAN DEN DOOL e DEC. KRATZ, 1963) e, por fim a análise quantitativa foi determinada por padronização interna. Os resultados foram expressos em mg/g, mg equivalente ao padrão interno (benzofenona) por grama de patê pastoso de pescado.

4.3.10. Análise Sensorial

A avaliação dos patês de *Oligosarcus robustus* e *Loricariichthys anus*, foi realizada com 15 painelistas treinados, através do teste de dominância temporal das sensações (TDS), quanto a oxidação lipídica nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento do produto. O treinamento ocorreu com 3 amostras comerciais de patê de pescado em 5 seções, a fim de avaliar a intensidade fraca e forte de cada atributo. Os atributos avaliados foram: gosto agradável, gosto desagradável, rançoso, gorduroso, oxidado, ardido, enjoativo e característico. Os patês foram mantidos a 4 °C em frascos de vidro. Cada painalista recebeu 10 g de cada amostra de patê, em pote de porcelana branca, em uma sala silenciosa do laboratório de análise sensorial, e avaliaram os atributos por 30 segundos no *software* *SensoMaker* (PINHEIRO *et al.*, 2013). As amostras foram identificadas com os códigos 210 (Patê de *Oligosarcus robustus*) e 101 (Patê de *Loricariichthys anus*), tendo um intervalo de uma hora entre as avaliações para não ocorrer comparação na avaliação. A análise foi

realizada no Laboratório de Análise Sensorial da UFPel. Este estudo foi submetido ao comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, aprovado e registrado em Plataforma Brasil/CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética), sob registro nº 58089922.2.0000.5317.

4.3.11. Análise estatística

Os dados obtidos foram avaliados através da Análise de Variância ANOVA, teste t para comparação das médias para variação das formulações e teste Tukey para variação do tempo ($p \leq 0,05$). Os dados obtidos, foram tratados no software Graphpad Prism® 8. Os dados da análise de componentes principais (ACP) foram tratados no software Statistica 7.0.

5. Resultados e Discussão

5.1. pH e acidez titulável

A Análise de Variância para pH e acidez mostrou que tanto o tempo de armazenamento ($p < 0,0001$) quanto a espécie do pescado utilizado ($p < 0,0001$) influenciaram os valores significativamente, havendo interações entre os dois fatores ($p < 0,001$). O efeito do tempo e formulação no pH e na acidez dos patês, pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2: Valores de pH e acidez de patês pastosos de viola e tambica, durante o armazenamento refrigerado

Tempo (dias)	pH		Acidez*	
	Viola	Tambica	Viola	Tambica
0	6,62 ± 0,015 ^{aA}	6,78 ± 0,014 ^{bA}	0,45 ± 0,009 ^{aE}	0,37 ± 0,119 ^{bD}
15	6,59 ± 0,012 ^{aA}	6,73 ± 0,029 ^{bA}	0,49 ± 0,003 ^{aD}	0,40 ± 0,006 ^{bD}
30	5,94 ± 0,054 ^{aB}	6,16 ± 0,024 ^{bB}	0,62 ± 0,010 ^{aC}	0,53 ± 0,005 ^{bC}
45	5,47 ± 0,025 ^{aC}	6,00 ± 0,063 ^{bC}	0,79 ± 0,009 ^{aB}	0,60 ± 0,011 ^{bB}
60	5,52 ± 0,071 ^{aC}	6,03 ± 0,046 ^{bC}	0,84 ± 0,021 ^{aA}	0,68 ± 0,013 ^{bA}

Média ± Desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam diferença pelo teste t ($p < 0,05$) entre as formulações, enquanto letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferença pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) ao longo do tempo. * % de ácido lático

Os valores de pH encontrados, foram semelhantes aos estudos de Mancera-Rodriguez *et al.* (2022) em patê de caranha (*Piaractus brachypomus*) e em patê de salmão formulado com linhaça (Cedeño-Pinos *et al.*, 2022). Nos patês de viola e tambica registrou-se uma diminuição do pH ao longo do armazenamento, observando-se que no patê de viola teve uma maior acidez podendo ser influenciado na contagem de bactérias aeróbias mesófilas ($7 \log \text{UFC g}^{-1}$) no final do período de armazenamento. Essa redução pode ser influenciada pelo crescimento gradativo de bactérias ácido-láticas que alteram acidez do produto, em virtude da produção de ácidos orgânicos (CRUXEN *et al.*, 2021; CEDEÑO-PINOS *et al.*, 2022), apesar de que a temperatura de refrigeração durante o armazenamento pode ser um limitante no crescimento microbiano.

5.2. Análises microbiológicas

A pesquisa de microrganismos patogênicos (Tabela 3) mostrou conformidade com a legislação brasileira vigente, durante os 60 dias de

armazenamento do patê (BRASIL, 2022), diante disso, os parâmetros microbiológicos foram considerados satisfatórios quanto ao aspecto higiênico-sanitário dos patês.

Quanto a avaliação da qualidade microbiológica dos produtos, no presente estudo, realizou-se contagem de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas, embora a legislação brasileira não contemple esses parâmetros. Em ambos os patês, foi obtida contagem de aeróbios mesófilos a partir de 15 dias sendo que, em 60 dias de armazenamento o patê de viola apresentou contagens de 7 log UFC g⁻¹ e de tambica 6,8 log UFC g⁻¹ (Tabela 3), sendo que o limite de aceitabilidade para contagem de bactérias aeróbias mesófilas para peixe pré-cozido de espécies marinhas e de água doce é de 7 log UFC g⁻¹, conforme preconizado pela ICMSF (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*, 2002). Já Özpolat (2022), ao pesquisar esses microrganismos, encontrou valores superiores a 7 log UFC g⁻¹ em 35 dias de armazenamento de almôndegas de *Capoeta trutta* com diferentes concentrações de fumaça líquida. Enquanto no estudo de Cruxen *et al.* (2021) com patê de viola e tambica, avaliaram esses microrganismos após o tratamento térmico e antes da adição do *L. acidophilus*, não obtendo contagens, corroborando com a contagem inicial (0 dia) do presente estudo.

A respeito da contagem de psicrotróficos não se obteve contagem, durante todo período de armazenamento. Os psicrotróficos contribuem para a deterioração dos alimentos, responsáveis pela diminuição da qualidade dos alimentos e menor aceitabilidade do consumidor (ZHANG *et al.*, 2019), ocorrendo quando a carga microbiana excede a 7 log UFC g⁻¹ (HARRIS e WILLIAMS, 2019). No estudo de Akullo *et al.* (2020), com linguças de tilápia, a contagem microbiana de psicrotróficos durante os 42 dias de armazenamento se manteve inferior a 4,5 log UFC g⁻¹, divergindo do presente estudo. Para Akullo *et al.* (2020), o crescimento microbiano em pescados causa deterioração, através de ácidos orgânicos, álcoois, aldeídos, cetonas e outros compostos que fornecem sabores indesejáveis aos produtos.

Quanto a viabilidade da bactéria probiótica, a contagem de *L. acidophilus* em relação ao tempo (p=0,0072) mostrou diferença significativa, enquanto a

espécie do pescado ($p=0,0565$) e a interação entre os fatores ($p=0,3429$) não interferiram na viabilidade da bactéria, em ambos os patês apresentando $9,54 \log \text{ UFC g}^{-1}$ (t_0) e $9,62 \log \text{ UFC g}^{-1}$ (t_{60}), ou seja, manteve durante todo período de armazenamento em refrigeração, uma concentração superior a $9 \log \text{ UFC g}^{-1}$. Segundo Papadopoulou *et al.* (2018), a concentração da cepa probiótica deve ser superior a $6 \log \text{ UFC g}^{-1}$, ao longo do armazenamento e no momento do consumo do alimento.

Guimarães *et al.* (2013), avaliaram a viabilidade das células probióticas em grânulos probióticos semelhantes a ovos de pescado contendo *L. rhammosus* e *B. animalis* subsp. *lactis*, enquanto *L. rhammosus* se manteve superior a $7 \log \text{ UFC g}^{-1}$, *B. animalis* subsp. *lactis* se manteve superior a $6 \log \text{ UFC g}^{-1}$, durante 30 dias de armazenamento a 4°C , corroborando com o presente estudo.

Tabela 3: Análises microbiológicas em patês pastosos de viola e tambica durante o armazenamento por 60 dias em refrigeração

Análises Microbiológicas	Tambica					Viola				
	0	15	30	45	60	0	15	30	45	60
Aeróbios mesófilos*	0,00±0,00 ^C	4,04±0,051 ^B	5,33±0,068 ^{AB}	6,08±0,454 ^{ns}	6,86±0,025 ^A	0,00±0,00 ^B	4,06±0,090 ^A	5,40±0,144 ^A	6,21±0,239 ^A	7,00±0,307 ^A
Psicrotróficos	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
<i>L. acidophilus</i> *	9,54±0,009 ^{ns}	9,51±0,020 ^B	9,50±0,017 ^{ns}	9,60±0,007 ^{ns}	9,62±0,006 ^A	9,54±0,009 ^A	9,51±0,020 ^A	9,50±0,017 ^B	9,60±0,007 ^A	9,62±0,006 ^A
<i>Salmonella</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Clostridium perfringens</i>	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
Estafilococos coagulase positiva	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C
<i>Escherichia coli</i>	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C	S/C

Média ± Desvio padrão. S/C: sem contagem; *log UFC g⁻¹. ns: não significativo. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam diferença pelo teste Tukey (p < 0,05) ao longo do tempo de armazenamento.

5.3. Índice de Peróxido e TBARS

Em relação ao valor encontrado para índice de peróxido (Tabela 4), as análises mostraram diferença significativa relacionadas ao tempo ($p < 0,0001$), tipo de pescado ($p < 0,0001$) e interação entre os fatores ($p < 0,0001$), embora o t_0 e t_{15} dos produtos não apresentarem diferença estatística. O patê de tambica apresentou valores de IP de 2,29 mEq/kg em 60 dias de armazenamento, e o patê de viola apresentou um aumento até o t_{45} (4,58 mEq/kg) e após ocorreu uma diminuição para 2,81 mEq/kg ao final de 60 dias, que pode ser devido à decomposição de hidroperóxidos em produtos de oxidação secundária (VANITHA *et al.*, 2015).

No estudo de Ali *et al.* (2019), com almôndegas de pescado tratadas com extratos de polifenóis totais, quando armazenados a 4 °C os valores de IP variaram de 1,31 a 3,10 mEq/Kg, corroborando com o presente estudo, enquanto a -18 °C variaram de 1,31 a 1,55 mEq/Kg. Todavia, no estudo com patês de salmão, os valores entre os tratamentos variaram de 3,82 a 5,37 mEq/kg em 42 dias de armazenamento (4 °C) (Cendeño-Pinos *et al.*, 2022), divergindo dos valores obtidos no presente estudo.

Quando os valores de peróxidos excedem 10 mEq/kg, os produtos são recusados ou considerados impróprios para o consumo (Ali *et al.*, 2019). Logo, como no presente estudo ambos os patês apresentaram valores abaixo de 10 mEq/Kg, podem ser considerados próprios para o consumo em 60 dias de armazenamento em refrigeração.

Os valores obtidos de TBARS mostraram diferença significativa avaliando o tempo ($p < 0,0001$), tipo de peixe ($p < 0,0001$) e a interação entre esses fatores ($p < 0,0001$), embora no t_0 os produtos não apresentaram diferença estatística (Tabela 4).

Tabela 4: Análise do índice de peróxido (IP) e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em patês pastosos de viola e tambica durante o armazenamento por 60 dias em refrigeração

Tempo (dias)	TBARS*		IP**	
	Viola	Tambica	Viola	Tambica
0	0,12 ± 0,011 ^{aC}	0,11 ± 0,017 ^{aC}	1,54 ± 0,127 ^{aE}	1,59 ± 0,144 ^{aC}
15	0,37 ± 0,022 ^{aA}	0,43 ± 0,018 ^{bB}	2,23 ± 0,071 ^{aBD}	2,43 ± 0,248 ^{aA}
30	0,33 ± 0,015 ^{aAB}	0,54 ± 0,016 ^{bA}	3,01 ± 0,049 ^{aB}	1,74 ± 0,170 ^{bCD}
45	0,32 ± 0,013 ^{aB}	0,55 ± 0,039 ^{bA}	4,58 ± 0,121 ^{aA}	2,42 ± 0,126 ^{bAB}
60	0,35 ± 0,026 ^{aAB}	0,51 ± 0,028 ^{bA}	2,81 ± 0,162 ^{aBC}	2,29 ± 0,181 ^{bAB}

Média ± Desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam diferença pelo teste t ($p < 0,05$) entre as formulações, enquanto letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferença pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) ao longo do tempo. TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; IP: índice de peróxido; *mg malonaldeído (MDA) kg^{-1} ; ** mEq/kg

Os valores encontrados no presente estudo variaram de 0,11 a 0,51 mg MDA/kg no patê de tambica e 0,12 a 0,35 mg MDA/kg de viola. São valores inferiores quando comparados ao estudo de Mancera-Rodriguez *et al.* (2022), que avaliaram a estabilidade de patê de *Piaractus brachypomus* por 42 dias, e no dia 28 apresentou 0,87 mg MDA/kg, enquanto o maior valor encontrado foi no patê de tambica no t45 (0,55 mg MDA/kg).

Dados também observados em patê de salmão, que apresentou uma oxidação lipídica inicial entre 0,86 a 0,79 mg MDA/kg logo após a pasteurização e, em 42 dias de armazenamento entre 0,94 a 1,55 mg MDA/kg, conforme o tratamento avaliado (diferentes concentrações de linhaça) (CEDEÑO-PINOS *et al.* 2022). Segundo Stefanello *et al.* (2015) no intervalo de 1 e 2 mg MDA/kg inicia-se a detecção sensorial de odores indesejáveis ao produto como o ranço.

Ambas as formulações de patês (viola e tambica) apresentaram um leve aumento dos valores de mg MDA/kg ao longo do armazenamento, porém no período final ocorreu uma diminuição nos valores. De acordo com Agregán *et al.* (2018) e Mancera-Rodriguez *et al.* (2022), a diminuição pode ser imposta pela reação exercida do malonaldeído com outros compostos como açúcares, nitritos e proteínas em alimentos complexos, como o patê. No geral, observamos nos patês durante todo tempo de armazenamento uma estabilidade com relação a oxidação lipídica, pela análise de TBARS.

5.4. Análise de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos de ambos os patês, está apresentado na Tabela 5.

Os ácidos graxos poli-insaturados mostram-se mais propensos a uma crescente oxidação, induzindo à diminuição do valor nutricional e à deterioração qualitativa dos pescados. Os principais ácidos graxos poli-insaturados no pescado são os EPA e DHA, conhecidos por trazer benefícios à saúde. Entretanto, diversos fatores como localização geográfica, sexo, maturidade, captura, estação do ano e o hábito alimentar afetam a composição dos peixes e a sua suscetibilidade a oxidação lipídica (CHAULA *et al.*, 2023; HSIEH e KINSELLA, 1989).

Diante disso, a produção de EPA e DHA pode variar pelo hábito alimentar rico em fitoplâncton que aumenta a produção de ácidos graxos essenciais, com base nisso, a variação também pode estar atrelada em diferentes partes do corpo do peixe, podendo variar a concentração no filé, cabeça, tecido adiposo (JABEEN e CHAUDHRY, 2011). No patê de tambica não foram identificados os ácidos graxos EPA e DHA, e no de viola, no t15 foram encontrados EPA (0,40%) e DHA (0,06%) e no t45 DHA (0,07%), corroborando com o estudo de Feng *et al.* (2020), onde em linguças de peixe não foi detectado DHA e sim, EPA (0,10%), no tempo zero. Diferentemente do observado por Cedeño-Pinos *et al.* (2022) em patê de salmão, cujos níveis de EPA e DHA ficaram em torno de 1 e 1,4 g/100g de gordura, respectivamente.

Os patês apresentaram uma elevada concentração de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) (63% tambica e 71% viola), contudo, não houve diferença significativa nos tempos zeros do armazenamento de ambos os patês. O pescado é um alimento que apresenta qualidade nutricional, principalmente pela composição lipídica, pois pode fornecer ácidos graxos poli-insaturados que são benéficos à saúde, atuando em diferentes sistemas, como no auxílio do sistema cardiovascular, artrite, depressão, entre outros (COLUSSI *et al.*, 2017; HU *et al.*, 2019; HERMES *et al.*, 2020; ABREU *et al.*, 2021).

No entanto, os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) de cadeia longa são comumente degradados por reações de oxidação lipídica, dando origem

aos hidroperóxidos, que se decompõem em produtos de origem secundária, como, os hidrocarbonetos, álcoois vinílicos, oxiésteres alquenoais, alcadienoais, vinilcetonas, entre outros (WEN *et al.*, 2023). Logo, a estabilidade oxidativa dos PUFA's é comparada com a posição das ligações de insaturações, como o ácido docosahexaenóico (DHA - C22:6n3) que é oxidado mais rapidamente, seguido pelo ácido eicosapentaenóico (EPA - C20:5n3), ácido araquidônico (AA - C20:4n6), ácido α -linolênico (LN - C18:3n3) e linoleato de metila (LA - C18:2n6) (MIYASHITA *et al.*, 2018).

Nos patês de tambica e viola, o ácido linoleico (C18:2N6), o ácido α -linolênico (C18:3 N3) e o ácido araquidônico (C20:4 N6), estiveram presente durante o período de armazenamento (60 dias). E os ácidos graxos como, ácido eicosapentaenoico (C20:5 N3) e ácido docosahexaenóico (C22:6 N3) estiveram presentes somente no patê de viola no tempo t15 e no t15 e t45, respectivamente.

Em relação aos PUFA's, em patê de salmão os valores obtidos ficaram em torno de 19,41 g/100g de gordura, observando que a adição de RLE (extrato lipofílico de alecrim) não afetou os níveis de ácidos graxos (CEDEÑO-PINOS *et al.*, 2022). E, no estudo de Feng *et al.* (2020), os PUFA's diminuíram significativamente ($p < 0,05$), na amostra controle de 33,70% (dia 0) para 22,51% (dia 16), o que indica que esses ácidos graxos são mais susceptíveis a oxidação lipídica. Enquanto isso, no presente estudo os PUFA's não diminuíram significativamente ($p < 0,05$) ao longo do armazenamento, evidenciando que os patês de ambos pescados, apresentaram baixa oxidação lipídica.

Além disso, a aplicação de antioxidante na formulação se deve para minimizar os processos oxidativos, sendo uma estratégia das indústrias alimentícia (GOUVÊA *et al.*, 2023). Conforme analisado, percebe-se que o antioxidante utilizado no estudo teve efeitos positivos para retardar a oxidação lipídica nos patês. No presente estudo em 60 dias de armazenamento para ambos os patês os valores estavam abaixo de 0,52 mg MDA/kg, destacando assim a importância do uso de antioxidante.

Segundo Hsieh e Kinsella (1989), os ácidos graxos (oleico, linoleico, linolênico e araquidônico) geram hidroperóxidos, compostos analisados pelo

teste de TBARS, que se transformam em compostos voláteis de baixo peso molecular como decanal, nonanal, octanal, hexanal, pentano, entre outros compostos. Analisando o ácido araquidônico e o ácido α -linolênico no presente estudo, os mesmos apresentaram uma redução significativa em ambos os patês, quando analisado t0 e t60 no período de armazenamento, podendo assim sinalizar uma oxidação lipídica desses ácidos graxos, enquanto o ácido linoleico se manteve estável durante os 60 dias de armazenamento.

Chaula *et al.* (2023), analisaram a oxidação lipídica associada aos ácidos graxos durante o armazenamento (21 dias) de sardinhas secas ao sol, defumadas e fritas em temperatura ambiente, os ácidos graxos (ácido araquidônico, ácido α -linolênico, EPA e DHA) degradaram nesse período, diminuindo conforme o aumento do tempo, essa diminuição nos PUFA's durante o armazenamento em todas as amostras e com mudanças no índice de peróxidos e TBARS indicaram que a oxidação lipídica ocorreu em taxas variadas em diferentes produtos de sardinha durante o armazenamento.

Quanto ao aumento na concentração dos ácidos graxos insaturados observado, isto pode ocorrer devido as enzimas chamadas dessaturases, que pertencem a uma família de enzimas as quais convertem ácidos graxos saturados em ácidos graxos insaturados e ácidos graxos poli-insaturados. Estas enzimas agem oxidando dois carbonos específicos da cadeia de um ácido graxo saturado, originando uma dupla ligação. Outra enzima que age na formação dos ácidos graxos insaturados a partir dos ácidos graxos saturados é a elongase, que adiciona duas moléculas de carbono na cadeia dos ácidos graxos saturados formando os ácidos graxos poli-insaturados (PERINI *et al.*, 2010). Tanto a dessaturase quanto a elongase, podem ser encontradas e produzidas por leveduras e bactérias, incluindo as bactérias ácido-lácticas (RENES *et al.*, 2017), como as utilizadas na formulação dos patês. Além disso, na formulação dos patês também constava condimentos e outros aditivos que podem complementar na presença de enzimas que agem na cadeia dos ácidos graxos. Essas transformações são cruciais para a síntese de ácidos graxos essenciais, como o ácido linoleico e o ácido α -linolênico, que o corpo humano não pode produzir e deve ser obtido através da alimentação (AKSAKAL *et al.*, 2023). A ação dessas enzimas pode explicar o aumento de ácidos graxos poli-

insaturados (AGPI) e ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) ao longo do tempo de armazenamento dos patês, neste estudo (Tabela 5).

Tabela 5: Perfil de ácidos graxos em patê de tambica e viola, nos diferentes intervalos de tempo de armazenamento.

Símbolos	Ácidos Graxos em patê de pescado (%)									
	Armazenamento Tambica (dias)					Armazenamento Viola (dias)				
	0	15	30	45	60	0	15	30	45	60
C10:0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,06±0,16 ^b	1,54±0,17 ^a	1,13±0,04 ^b	nd
C11:0	0,36±0,04 ^A	nd	nd	0,17±0,06 ^{Bn/s}	nd	1,84±0,16 ^a	0,11±0,02 ^{cn/s}	0,19±0,03 ^c	0,19±0,03 ^c	0,42±0,06 ^b
C14:1	nd	nd	nd	nd	0,10±0,03 ^A	0,48±0,10 ^a	0,04±0,02 ^b	0,07±0,02 ^b	0,04±0,01 ^b	0,13±0,03 ^b
C16:0	5,24±0,14 ^A	3,22±0,77 ^B	5,02±0,16 ^C	2,78±0,19 ^B	2,83±0,25 ^B	3,33±0,67 ^b	1,31±0,28 ^c	2,26±0,33 ^c	1,96±0,04 ^c	4,77±0,67 ^a
C17:1	nd	1,99±0,11 ^{AB}	2,55±0,39 ^A	1,25±0,20 ^{Cn/s}	1,53±0,19 ^{BC}	nd	0,95±0,07 ^c	1,34±0,13 ^b	1,14±0,03 ^{cn/s}	1,99±0,04 ^a
C18:0	6,06±0,57 ^{AB}	5,63±0,51 ^{AB}	6,88±0,25 ^A	4,01±0,89 ^{Cn/s}	5,00±0,35 ^{BC}	12,01±0,26 ^a	4,08±0,08 ^d	4,99±0,08 ^c	4,72±0,24 ^{cn/s}	6,19±0,17 ^b
C18:1 n9c	3,83±0,16 ^A	2,52±0,18 ^C	3,32±0,30 ^B	1,99±0,06 ^D	2,04±0,06 ^D	nd	0,84±0,09 ^c	1,63±0,09 ^b	1,08±0,18 ^c	2,99±0,06 ^a
C18:1 n9t	1,77±0,18 ^A	1,06±0,15 ^B	1,46±0,12 ^A	0,75±0,08 ^B	0,95±0,14 ^B	4,54±0,42 ^a	0,35±0,07 ^c	0,73±0,04 ^c	0,51±0,03 ^c	1,31±0,03 ^b
C18:2 n6	59,18±0,89 ^C	72,13±0,93 ^A	70,28±0,59 ^A	60,47±0,58 ^C	64,56±0,69 ^B	69,47±0,76 ^d	88,30±0,33 ^a	80,36±0,33 ^c	84,52±0,57 ^b	71,11±0,88 ^d
C18:3 n6	0,69±0,10 ^{An/s}	0,68±0,08 ^{An/s}	0,71±0,06 ^{An/s}	0,56±0,07 ^{An/s}	0,63±0,09 ^{An/s}	0,64±0,11 ^{an/s}	0,74±0,08 ^{an/s}	0,69±0,03 ^{an/s}	0,70±0,10 ^{an/s}	0,73±0,06 ^{an/s}
C20:1	nd	nd	nd	17,61±0,55 ^A	2,11±0,12 ^B	nd	nd	nd	nd	nd
C18:3 n3	2,60±0,08 ^A	0,52±0,07 ^C	nd	1,01±0,08 ^B	1,15±0,24 ^B	0,85±0,07 ^a	0,28±0,03 ^b	0,44±0,04 ^c	nd	nd
C21:0	2,11±0,10 ^B	2,05±0,13 ^{BC}	nd	2,50±0,23 ^A	1,70±0,14 ^C	4,03±0,09 ^a	0,74±0,08 ^e	1,19±0,09 ^c	0,99±0,02 ^d	1,78±0,03 ^b
C22:0	3,90±0,09 ^A	2,00±0,08 ^B	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C20:3 n6	nd	nd	nd	1,11±0,14 ^A	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C22:1 n9	nd	1,26±0,06 ^{AB}	1,87±0,13 ^A	0,97±0,13 ^B	1,33±0,60 ^{AB}	4,76±0,25 ^a	0,60±0,02 ^d	0,97±0,02 ^c	0,72±0,07 ^{cd}	1,60±0,02 ^b
C20:3 n3	0,19±0,02 ^A	0,11±0,02 ^A	0,18±0,04 ^A	0,08±0,03 ^{An/s}	0,13±0,07 ^A	nd	0,03±0,01 ^c	0,08±0,01 ^b	0,08±0,02 ^{bn/s}	0,14±0,03 ^a
C20:4 n6	0,56±0,06 ^{Bn/s}	1,81±0,15 ^A	0,43±0,09 ^{BC}	0,24±0,06 ^C	0,18±0,07 ^{Cn/s}	0,57±0,12 ^{an/s}	0,07±0,01 ^b	0,14±0,02 ^b	0,10±0,02 ^b	0,22±0,04 ^{bn/s}
C23:0	5,82±0,17 ^A	2,20±0,17 ^B	2,73±0,25 ^B	1,34±0,33 ^C	2,11±0,21 ^B	5,96±0,12 ^a	0,50±0,15 ^d	0,99±0,01 ^c	0,66±0,04 ^d	1,81±0,03 ^b

C22:2		nd	nd	nd	1,61±0,24 ^A	nd	nd	nd	nd	nd
C24:0	4,10±0,26 ^{An/s}	2,70±0,27 ^{BC}	3,47±0,51 ^{AB}	2,18±0,33 ^{Cn/s}	1,91±0,23 ^C	4,73±0,59 ^{an/s}	1,09±0,07 ^c	1,91±0,09 ^c	1,80±0,59 ^{cn/s}	3,43±0,09 ^b
C20:5 n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,40±0,04 ^a	nd	nd	nd
C24:1	nd	nd	1,80±0,25 ^A	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C22:6 n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,06±0,01 ^a	nd	0,07±0,01 ^a	nd
ΣAGS	27,58±0,49 ^A	17,80±0,97 ^B	18,10±0,43 ^B	12,97±0,95 ^{Cn/s}	13,56±0,47 ^C	31,89±0,58 ^a	8,89±0,36 ^d	13,07±0,44 ^c	11,46±0,87 ^{cn/s}	18,40±0,84 ^b
ΣAGMI	5,60±0,35 ^D	6,83±0,44 ^{CD}	11,00±0,55 ^B	22,56±0,64 ^A	8,07±0,75 ^C	9,78±0,75 ^a	2,79±0,13 ^d	4,72±0,18 ^c	3,50±0,29 ^d	8,02±0,05 ^b
ΣAGPI	63,22±1,00 ^{Dn/s}	75,21±0,92 ^A	71,60±0,64 ^B	63,47±0,86 ^D	68,26±0,25 ^C	71,54±1,05 ^{dn/s}	89,87±0,30 ^a	81,71±0,42 ^c	85,48±0,65 ^b	72,19±0,77 ^d

Médias aritméticas simples (n=3) ± desvio padrão. nd: não identificado; t: trans; C: cis, ω/N: ômega; T: tambica; V: viola. Diferentes letras maiúsculas na linha diferem entre si, comparando os T0, T15, T30, T45, T60 e com diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si, comparando os V0, V15, V30, V45, V60, pelo teste de Tukey (p≤0,05). *n/s (não significativo) pelo teste t-Student (p≤0,05) comparando os diferentes espécies de peixes T vs V;; Σ somatório dos AGS: Ácidos graxos saturados; AGMI: Ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: Ácidos graxos poli-insaturados.

5.5. Identificação de compostos orgânicos voláteis

Foram identificados e detectados compostos orgânicos voláteis relacionados a oxidação lipídica pertencentes a cinco funções orgânicas distintas, sendo estes os hidrocarbonetos, aldeídos, ácidos graxos, ésteres e álcool (Tabela 6). Ao longo dos 60 dias de armazenamento o patê de tambica liberou uma quantidade de COV's três vezes superiores ao patê de viola, sendo a liberação majoritária ocorrendo em 15 dias de armazenamento para o patê de tambica e 0 dia para o patê de viola.

Quanto aos compostos voláteis relacionados a oxidação lipídica, percebe-se que compostos como os hidrocarbonetos e os aldeídos são resultantes da oxidação lipídica dos produtos primários (SILVA *et al.*, 1999). Conforme os resultados da análise de IP, observa-se que ocorreu a degradação dos peróxidos, corroborando com a afirmação de Silva *et al.* (1999), encontrado hidrocarbonetos e aldeídos nos tempos 0 e 15 dias de armazenamento, indicando que ocorreu neste tempo o aumento de TBARS nas amostras de patês, no presente estudo.

A presença de hidrocarbonetos nos patês deste estudo também pode ser explicada devido à própria composição do peixe, uma vez que os lipídios presentes em seus tecidos consistem principalmente em hidrocarbonetos, que quando processados podem contribuir para o aroma e sabor do patê, e como descrito anteriormente, os hidrocarbonetos nos tempos de 0 e 15 dias podem ter ocorrido devido à oxidação lipídica inicial dos lipídios presentes. À medida que o tempo de armazenamento avança, fatores como a diminuição do oxigênio disponível e o progresso da reação de oxidação podem limitar a formação e a detecção contínua desses compostos nos tempos de 30, 45 e 60 dias. Durante esse tempo, a falta ou diminuição de oxigênio atmosférico resultou na diminuição de novos compostos voláteis. Além disso, também é possível que ocorra uma transformação ou degradação química resultando na redução ou não detecção dos compostos iniciais (DOUNY *et al.*, 2021; OLIVARES-RUBIO e ESPINOSA-AGUIRRE, 2021).

Com base na oxidação lipídica, os hidrocarbonetos, ésteres, álcoois não foram identificados nos tempos 30, 45 e 60 dias de armazenamentos, de ambos os patês. Já os compostos voláteis de aldeídos foram encontrados nos 30, 45 e 60 dias de armazenamentos, apenas no patê de viola. Diante disso, percebe-

se que a análise de TBARS teve uma estabilidade após os 15 dias de armazenamento, corroborando com os resultados de compostos voláteis.

Entre os compostos formados a partir da oxidação lipídica estão os pertencentes aos aldeídos como nonanal, heptanal, decanal, octanal, tetradecatienal podendo ser derivados dos hidroperóxidos formados a partir de ácidos graxos como o ácido oleico, ácido linoleico, ácido linolênico e do ácido araquidônico (HSEIH e KINSELLA, 1989). No presente estudo, foi observado aldeídos em ambos os patês, dando ênfase no patê de viola pois o nonanal foi encontrado durante o armazenamento, exceto no tempo de 45 dias.

Com base nisso, a peroxidação dos ácidos graxos insaturados pode gerar produtos da oxidação secundária, como alcanos, alcenos, aldeídos, cetonas e entre outros. Esses compostos podem reduzir o valor nutricional, formar sabores indesejados e radicais livres formados durante a oxidação (ARAB-TEHRANY *et al.*, 2012), portanto, no presente estudo as substâncias voláteis de baixo peso molecular, como os aldeídos foram observadas até o tempo 15 no patê de tambica não causando um sabor perceptível na avaliação sensorial (Figura 3), já para o patê de viola que teve a presença do composto nonanal no tempo 30 e 45 teve a percepção pelos painelistas na análise sensorial (Figura 4), observando assim os produtos indesejáveis da oxidação lipídica no produto.

Para Nielsen *et al.* (2011), que avaliaram o retardamento da oxidação lipídica em patê de peixe enriquecido de óleo de peixe no estudo de análise de voláteis por SPME, detectaram cinco aldeídos (2-butenal, hexanal, 2-hexenal, 4-heptenal e octanal) e um álcool (1-hexanol), sendo que todas as amostras apresentaram níveis baixos de voláteis até a oitava semana, quando após esse período o teor de voláteis aumentou. E Cedeño-Pinos *et al.* (2022), avaliaram extrato de alecrim como antioxidante natural em patê de salmão formulado com linhaça por 42 dias de armazenamento, observaram a abundância de 1-pentanol e 1-hexanol que aumentaram com o armazenamento a frio (4°C), enquanto, hexanal e 2-metil-propanal diminuíram no 42º dia.

Tabela 5: Perfil de compostos orgânicos voláteis dos patês de tambica e viola, nos diferentes intervalos de tempo de armazenamento.

Compostos Orgânicos Voláteis em patê de pescado (mg/g)										
COV's	Patê de Tambica (dias)					Patê de Viola (dias)				
	T0	T15	T30	T45	T60	V0	V15	V30	V45	V60
Hidrocarboneto										
2,5-Dimetiltetradecano	nd	3,34±0,07 ^A	nd	nd	nd	0,04±0,04 ^a	nd	nd	nd	nd
2-Metildecano	0,06±0,01 ^A	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5-Isobutilnonano	nd	4,08±0,02 ^A	nd	nd	nd	0,03±0,03 ^a	nd	nd	nd	nd
Docosano	0,09±0,01 ^{An/s}	nd	nd	nd	nd	0,14±0,09 ^{an/s}	nd	nd	nd	nd
Dodecano	0,07±0,01 ^B	2,53±0,12 ^A	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Eicosane	0,02±0,00 ^{Bn/s}	2,80±0,10 ^A	nd	nd	nd	0,03±0,01 ^{an/s}	0,05±0,02 ^a	nd	nd	nd
Σ Hidrocarbonetos	0,24±0,03 ^B	12,77±0,31 ^A	-	-	-	0,24±0,17 ^b	0,05±0,02 ^a	-	-	-
Aldeido										
Heptanal	0,02±0,00 ^{An/s}	nd	nd	nd	nd	0,03±0,01 ^{an/s}	nd	nd	nd	nd
Nonanal	0,34±0,01 ^{Bn/s}	7,59±0,03 ^A	nd	nd	nd	0,36±0,03 ^{cn/s}	0,77±0,05 ^a	0,56±0,01 ^b	nd	0,36±0,00 ^c
Octanal	nd	2,45±0,10 ^A	nd	nd	nd	nd	0,59±0,02 ^a	nd	nd	nd
Σ Aldeidos	0,36±0,01 ^{Bn/s}	10,04±0,13 ^A	-	-	-	0,39±0,04 ^{bn/s}	1,36±0,07 ^a	0,56±0,01 ^b	-	0,36±0,00 ^c
Ácidos graxos										
Ácido Araquidônico	nd	nd	nd	nd	nd	0,08±0,01 ^a	nd	nd	nd	nd
Ácido eláidico	nd	12,63±0,12 ^A	0,89±0,01 ^B	nd	nd	10,90±0,15 ^a	0,50±0,07 ^b	nd	nd	nd

Ácido Heptadecanóico	nd	3,65±0,05 ^A	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ácido Hexadecanóico	2,25±0,01 ^A	nd	0,56±0,08 ^B	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ácido linoleico	0,01±0,00 ^A	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ácido Mirístico	nd	2,34±0,07 ^A	nd	nd	nd	0,17±0,03 ^a	0,27±0,09 ^a	nd	nd	nd
Ácido Oleico	1,25±0,04 ^A	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ácido Pentadecanóico	0,02±0,01 ^B	5,62±0,02 ^A	nd	nd	nd	0,09±0,02 ^b	0,25±0,03 ^a	nd	nd	nd
Ácido esteárico	1,24±0,08 ^B	3,85±0,08 ^A	nd	nd	nd	0,62±0,01 ^b	0,96±0,07 ^a	nd	nd	nd
Σ Ácidos Graxos	4,77±0,14 ^{Bn/s}	28,09±0,34 ^A	1,45±0,09 ^C	-	-	11,86±0,22 ^{an/s}	1,98±0,2 ^b	-	-	-
Esteres										
Caprato de etila	0,08±0,03 ^A	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Palmitato de isopropila	nd	4,56±0,06 ^A	nd	nd	nd	nd	0,07±0,05 ^a	nd	nd	nd
Σ Esteres	0,08±0,03 ^B	4,56±0,06 ^A	-	-	-	-	0,07±0,05 ^a	-	-	-
Alcool										
n-Nonadecanol-1	nd	0,18±0,02 ^{An/s}	nd	nd	nd	0,04±0,01 ^b	0,14±0,04 ^{an/s}	nd	nd	nd
Σ Alcool	-	0,18±0,02 ^{An/s}	-	-	-	0,04±0,01 ^b	0,14±0,04 ^{an/s}	-	-	-

Médias aritméticas simples (n=3) ± desvio padrão. nd: não identificado; t: tambica; V: viola. Diferentes letras maiúsculas na linha diferem entre si, comparando os T0, T15, T30, T45, T60 e com diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si, comparando os V0, V15, V30, V45, V60, pelo teste de Tukey (p≤0,05).

*n/s (não significativo) pelo teste t-Student (p≤0,05) comparando as diferentes espécies de peixes T vs V. Σ somatório.

5.6. Análise sensorial

As curvas de TDS obtidas estão apresentadas nas Figuras 3 e 4 para o patê de tambica e viola, respectivamente.

No patê de tambica, ao longo do armazenamento, foram predominantes o gosto “característico” e o gosto “agradável”, contudo, no período de 15, 30 e 45 dias de armazenamento, os painelistas encontraram gostos como o “ enjoativo” e “gorduroso”, (Figura 3). Enquanto para o patê de viola, nos primeiros 30 dias de armazenamento predominou o gosto “agradável”, “gorduroso”, “característico” e “enjoativo”, já no tempo 45 os painelistas perceberam gosto de “ranço”, “oxidado”, “ardido” e “enjoativo”.

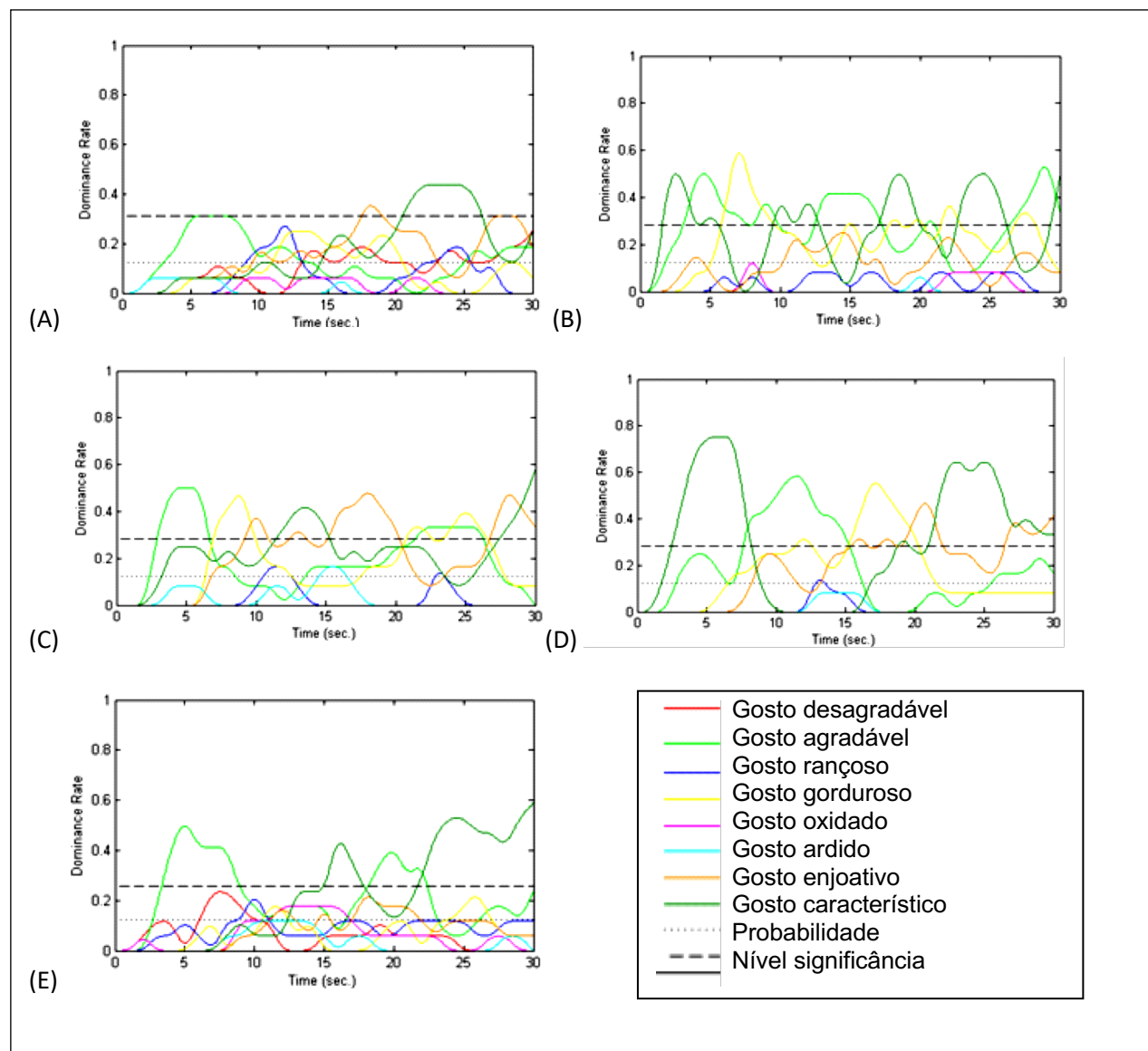


Figura 3 Tempo 0 (A), tempo 15 (B), tempo 30 (C), tempo 45 (D) e tempo 60 (E) de patê de tambica, durante o armazenamento em refrigeração

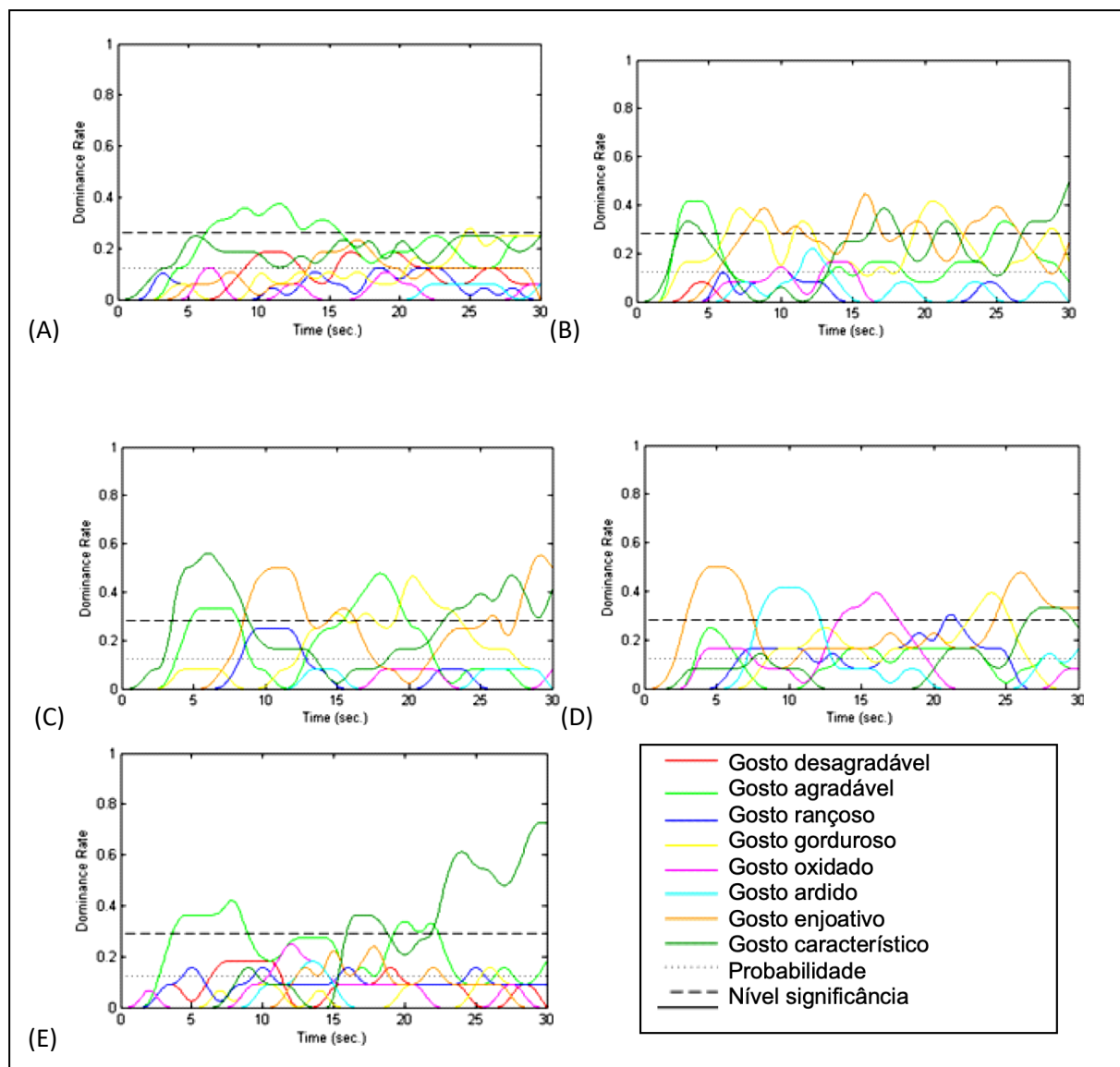


Figura 4 - Tempo 0 (A), tempo 15 (B), tempo 30 (C), tempo 45 (D) e tempo 60 (E) de patê de viola, durante o armazenamento em refrigeração

Em relação ao patê de tambica o intervalo de tempo em que a taxa de dominância é $\geq 90\%$ apresentou a predominância no t0 do gosto “enjoativo”, no t15 o gosto “característico”, no t30 o gosto “enjoativo”, no t45 o gosto “ardido” e “característico”, e no t60 o gosto “característico”. Logo, o patê de tambica não apresentou oxidação lipídica suficiente para ser perceptível sensorialmente, ao longo do período de armazenamento.

Em relação ao patê de viola o intervalo de tempo em que a taxa de dominância é $\geq 90\%$ apresentou a predominância no t0 do gosto “característico”, no t15 o gosto “gorduroso”, no t30 o gosto “enjoativo”, no t45 o gosto “enjoativo”, e no t60 o gosto “rançoso”, conforme dados obtidos pelo

SensoMaker (Apêndice A). Quando avaliado o índice de peróxido do patê de viola, o mesmo apresentou um aumento significativo no t45, o que vai ao encontro do observado pelos painelistas, que caracterizaram sensorialmente o atributo de “oxidado” e “rançoso”.

Já Furey *et al.* (2022), avaliaram sensorialmente patê de frutos do mar (à base de ovas, leite e fígado) por avaliadores não treinados, e as curvas de TDS demonstraram dominância no paladar do sabor de peixe seguido da percepção de salinidade, enquanto sabor e pastosidade também foram perceptíveis, mas não significativos. Corroborando com o presente estudo tendo em vista que, o sabor de peixe relatado assemelha-se ao “gosto característico” descrito pelos avaliadores.

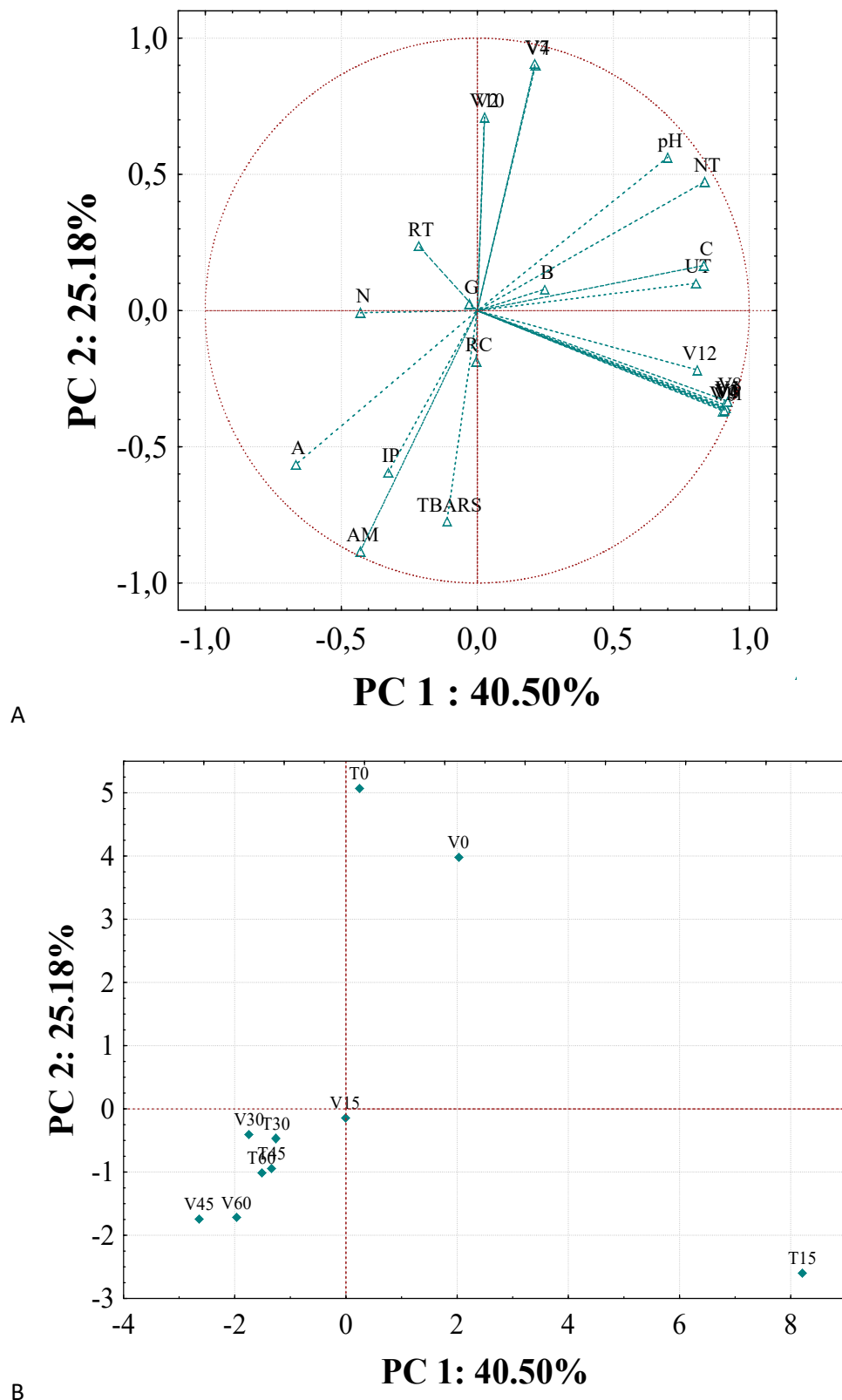
5.7. Análise multivariada de dados

A análise de componentes principais (ACP), evidenciou um nível de explicação (variância) para as amostras de viola (40,50%) em relação as amostras de tambica (25,18%), sendo assim, pode-se considerar que o mapa perceptivo bidimensional apresentado é suficiente para avaliar as relações entre as variáveis, pois explica 65,68% da variabilidade dos dados.

Na projeção das variáveis (Figura 5A e 5B) pode-se observar que o sabor oxidado (RT) e o sabor gorduroso (G) estão positivamente correlacionados entre si, o que significa que os patês de viola (15 dias) apresentaram essas características mais acentuadamente, no entanto, esses fatores estão dispostos em posições diametralmente opostas ao patê de tambica (15 dias) que está positivamente relacionada com o fator RC (sabor de ranço). Os demais patês estão todos dispostos positivamente aos fatores de aeróbios mesófilos (AM), acidez (A), sabor enjoativo (N). Todos esses resultados estão de acordo com os dados já relatados nas análises realizadas e na análise sensorial.

Entretanto, apesar destes resultados evidenciarem atributos negativos nas amostras de patê de viola e tambica, os índices são baixos, conforme visto nos valores de TBARS encontrados no estudo que variaram de 0,11 a 0,51 mg MDA/kg no patê de tambica e 0,12 a 0,35 mg MDA/kg de viola, sendo valores inferiores quando comparados ao estudo de Mancera-Rodriguez *et al.* (2022), bem como os valores encontrados na análise de IP, onde o patê de tambica

apresentou valores de IP de 2,29 mEq/kg em 60 dias de armazenamento, e o patê de viola apresentou um aumento até o t45 (4,58 mEq/kg) e após ocorreu uma diminuição para 2,81 mEq/kg ao final de 60 dias, divergindo de resultados encontrados por Cendeño-Pinos *et al.* (2022).



Acidez (A), Aeróbios mesófilos (AM), Índice de Peróxido (IP), Sabor desagradável (UT), sabor agradável (NT), rançoso (RC), gorduroso (G), oxidado (RT), ardido (B), enjoativo (N), característico (C), v1 - 2,5-dimetiltetradecano, v2 - 2-metildecano, v3 - 5-isobutilnonano, v4 - docosano, v5 - dodecano, v6 - eicosano, v7 - hexatriacontano, v8 - metilundecano, v9 - tetracosano, v10 - tridecano, v11 - undecano, v12 - decanal, v13 - heptanal, v14 - nonanal, v15 - octanal, v16 - tetradecatrienal, v26 - caprato de etila, v27 - palmitato de isopropila, v28 - n-nonadecanol-1.

Figura 5 - Gráfico das variáveis (A) TBARS, aeróbios mesófilos, índice de peróxido, acidez, pH, compostos voláteis e análise sensorial sobre os efeitos da oxidação e gráfico das amostras (B) de patê de tambica (T) e patê de viola (V) nos respectivos tempos (0, 15, 30, 45 e 60) de armazenamento em refrigeração.

Avaliando as amostras de patê isoladamente, observa-se que o patê de tambica apresentou um teor de oxidação mais baixo entre 30, 45 e 60 dias de armazenamento em comparação as amostras de patê de viola nos dias 45 e 60, que apresentam um maior nível de oxidação (Figura 5B) pois estão mais afastadas da região central do plano fatorial. Por fim, os julgadores treinados não conseguiram identificar esses atributos na análise sensorial, durante o tempo de armazenamento, tempo em que foi avaliado de forma simultânea os compostos voláteis, IP e TBARS.

6. Conclusão

Os resultados do presente estudo demonstraram que é possível produzir um produto funcional à base de pescado, com frutooligossacarídeos e *Lactobacillus acidophilus* LAFT L10 mantendo-se superior a 9 log UFC g⁻¹ até o final do período de armazenamento. Quanto aos parâmetros microbiológicos, os patês apresentaram condições higiênico-sanitárias satisfatórias, assim como a qualidade microbiológica dos mesmos, durante os 60 dias de armazenamento do produto. Sensorialmente, os painelistas tiveram a percepção de produtos indesejáveis da oxidação lipídica no patê de viola que teve a presença do composto nonanal no tempo 30 e 45, já no patê de tambica, a não percepção pelos painelistas corroborou com as análises de IP e TBARS. Quanto aos ácidos graxos, ácido araquidônico e ácido α -linolênico apresentaram redução em ambos os patês, sinalizando oxidação lipídica, enquanto o ácido linoleico manteve estabilidade durante os 60 dias de armazenamento. Portanto, os resultados obtidos indicam segurança e qualidade do patê de pescado e estabilidade oxidativa pelo período de 45 dias para o patê de viola e para o patê de tambica o período se estende para 60 dias, com armazenamento em refrigeração.

7. Referências

- ABEYRATHNE, Edirisingha Dewage Nalaka Sandun; NAM, Kichang; AHN, Dong Uk. Analytical Methods for Lipid Oxidation and Antioxidant Capacity in Food Systems. **Antioxidants**, v. 10, n. 10, 2021.
- ABREU, Lais Lima de Castro; ROLIM, Rodrigo Feijão; ALMEIDA, Alisson de Abreu. Type 2 Diabetes mellitus versus pequi's antioxidant potential: a review **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e321101119603, 2021.
- ADELEKE, Bartholomew Saanu; BABALOLA, Olubukola Oluranti. Oilseed crop sunflower (*Helianthus annuus*) as a source of food: Nutritional and health benefits. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 9, p. 4666-4684, 2020.
- AGREGÁN, Rubén; FRANCO, Daniel; CARBALLO, Javier; TOMASEVIC, Igor; BARBA, Francisco J.; GÓMEZ, Belén; MUCHENJE, Voster; LORENZO, José M. Shelf life study of healthy pork liver pâté with added seaweed extracts from *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* and *Bifurcaria bifurcata*. **Food Research International**, v. 112, p. 400-411, 2018.
- AKSAKAL, Ercüment et al. Effects of dietary replacement of fish oil with different lipid sources on growth, fatty acid composition, mineral content and expression levels desaturase and elongase genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Reports**, v. 29, p. 101519, 2023.
- AKULLO, D.; KIGOZI, J. MUYONGA, J. H. Nutritional, sensory and shelf life quality of tilapia and Nile perch sausages enriched with fish bone soup. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 8, n. 3, p. 646-653, 2020.
- ALBERT, A.; SALVADOR, A.; SCHLICH, P.; FISZMAN, S. Comparison between temporal dominance of sensations (TDS) and key-attribute sensory profiling for evaluating solid food with contrasting textural layers: Fish sticks. **Food Quality and Preference**, v. 24, n. 1, p. 111-118, 2012.
- ALEXANDRE, Ana Cláudia Silveira; ALBERGARIA, Francielly Corrêa; VENÂNCIO, Anderson Henrique; RIBEIRO, Ana Paula Lima; HADDAD, Felipe Furtini; TANAKA, Marcelo Stefanini; SOUZA, Roberta Hipólito de; GOMES, Maria, Emília de Sousa. Qualidade de peixes: uma breve revisão. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, cap. 9, p. 144-173, 2021.
- ALI, Muhammad; IMRAM, Muhammad; NADEEM, Muhammad; KHAN, Muhammad Kamram; SOHAIB, Muhammad; SULEIRA, Hafiz Ansar Rasul; BASHIR, Reeja. Oxidative stability and Sensoric acceptability of functional fish meat product supplemented with plant-based polyphenolic optimal extracts. **Lipids Health Dis.**, v. 18, n. 35, 2019.
- AMBALAM, Padma; RAMAN, Maya; PURAMA, Ravi Kiram; DOBLE, Mukesh. Probiotics, prebiotics and colorectal cancer prevention. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 30, n. 1, p. 119–131, 2016.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para determinação de prazos de validade de alimentos**, v. 1, n. 16, 2018.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official method of analysis of the AOAC International**. Gaithersburg, MD, USA, 20. ed., 2016a.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official method of analysis of the AOAC International**. Gaithersburg, MD, USA, 20. ed., 2016b.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official method of analysis of the AOAC International**, Gaithersburg, MD, USA, 18. ed., 2005.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, 2002.

AQUERRETA, Yolanda; ASTIASARAN, Iciar; MOHINO, Antonio; BELLO, José. Composition of pâtés elaborated with mackerel flesh (*Scomber scombrus*) and tuna liver (*Thunnus thynnus*): Comparison with commercial fish pâtés. **Food Chemistry**, v. 77, n. 2, p. 147–153, 2002.

ARAB-TEHRANY, Elmira; JACQUOT, Muriel; GAIANI, Claire; IMRAN, Muhammad; DESOBRY, Stephane; LINDER, Michel. Beneficial effects and oxidative stability of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. **Trends in Food Science & Technology**, v. 25, n. 1, p. 24-33, 2012.

ARIÑO, A.; BELTRÁN, J. A.; HERRERA, A.; RONCALÉS, P. Fish and seafood: Nutritional Value. **Encyclopedia of Human Nutrition**, p. 254-261, 2013.

ARYEE, Alberta na; AKANBI, Taiwo O.; NWACHUKWU, Ifeanyi D.; GUNATHILAKE, Tharuka. Perspectives on preserving lipid quality and strategies for value enhancement. **Current Opinion in Food Science**, v. 44, 2022.

ASPRI, Maria; PAPADEMAS, Photis; TSALTAS, Dimitrios. Review on Non-Dairy Probiotics and Their Use in Non-Dairy Based Products. **Journal Fermentation**, v. 6, n. 1, 2020.

BEKHIT, Alaa El-Din A.; HOLMAN, Benjamin W.B.; GITERU, Stephen G.; HOPKINS, David L. Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 109, p. 280-302, 2021.

BELLAVER, Claudio; ZANOTTO, Dirceu L. Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos proteicos de origem animal. In: Associação Brasileira de Produtores de Pintos de Corte - **APINCO**, 2004, São Paulo- SP.

BERGER, Ralf G.; SCHMIDT, Sibylle. Aroma Compounds in Fermented Sausages of Different Origins. **LWT - Food Science and Technology**, v. 31, n. 6, p. 559-567, 1998.

BIS-SOUZA, Camila V.; PATEIRO, Mirian; DOMÍNGUEZ, Rubén; PENNA, Ana L.B.; LORENZO, José M.; BARRETTO, Andrea C. Silva. Impact of fructooligosaccharides and probiotic strains on the quality parameters of low-fat Spanish Salchichón. **Meat Science**, v. 159, 2020.

BOZOGLU, T. Faruk; ERKMEN, Osman. Types of Microorganisms in Foods. **Food Microbiology: Principles into Practice**, v. 1, p. 35–80, 2016.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimentos. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de patê, de bacon ou barriga defumada e de lombo suíno. Instrução Normativa nº 21, de julho de 2000. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimentos, 2000.

BRASIL, Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – Decreto nº 10.468. Brasília, DF: **Ministério da Saúde**, 2020.

BRASIL, Resolução da Diretoria Colegiada - Instrução Normativa nº 161. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Brasília, DF: **Ministério da Saúde**, 2022.

BURAN, İlkay; AKAL, Ceren; OZTURKOGLU-BUDAK, Sebnem; YETISEMIYEN, Atila. Rheological, sensorial and volatile profiles of synbiotic kefir produced from cow and goat milk containing varied probiotics in combination with fructooligosaccharide. **LWT**, v. 148, 2021.

CAMPBELL-PLATT, Geoffrey. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri/SP: Editora Manole, 2015.

CEDEÑO-PINOS, Cristina; MARTÍNEZ-TOMÉ, Magdalena; MERCATANTE, Dario; RODRÍGUEZ-ESTRADA, María Teresa; BAÑÓN, Sancho. Assessment of Diterpene-Rich Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract as a Natural Antioxidant for Salmon Pâté Formulates with Linseed. **Antioxidants**, v. 11, n. 6, 2022.

CHAULA, Davis; JACOBSEN, Charlotte; LASWAI, Henry S.; CHOVE, Bernard Elias; DALSGAARD, Anders; MDEGELA, Robinson; HYLDIG, Grethe. Changes in fatty acids during storage of artisanal-processed freshwater sardines (*Rastrineobola argentea*). **Food Science & Nutrition**, v. 11, p. 3040-3047, 2023.

COLUSSI, G.; CATENA, C.; NOVELLO, M.; BERTIN, N.; SECHI, LA. Impact of omega-3 polyunsaturated fatty acids on vascular function and blood pressure: relevance for cardiovascular outcomes. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v.27, n.3, p. 191-200, 2017.

COMPÊNDIO brasileiro de alimentação animal 2013. São Paulo: Sindirações, 2013. 544p.

CRUXEN, Claudio Eduardo dos Santos; THIEL, Patricia Radatz; SOUZA, Daiane Machado; COSTA, Roger Junges da; FILODA, Paula Freitas; CHAVEZ, Fabio Chaves; FIORENTINI, Ângela Maria. Developing functional fish pâtés from *Oligosarcus robustus* and *Loricariichthys anus* with pre- and pro-biotic potentials. **Food Bioscience**, v.44, 2021.

CUNNINGHAM, Marla; AZCARATE-PERIL, M. Andrea; BARNARD, Alan; BENOIT, Valerie; GRIMALDI, Roberta; GUYONNET, Denis; HOLSCHER, Hannah D.; KIRSTY, Caçadora de; MANURUNG, Sarmauli; OBIS, David; PETROVA, Maria I.; STEINERT, Robert E.; SWANSON, Kelly S.; SINDEREN, Douwe Van; VULEVIC, Jelena; GIBSON, Glenn S. Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics. **Trends in Microbiology**, v. 29, n. 8, 2021.

DAMODARAN, Srinivasan; PARKIN, Kirk L.; FENNEMA, Owen R. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 4 ed. 2010.

DE LA ROSA, Orlando; FLORES-GALLEGOS, Adriana Carolina; MUNÍZ-MARQUEZ, Diana; NOBRE, Clarisse; CONTRERAS-ESQUIVEL, Juan C., AGUILAR, Cristobal N. Fructooligosaccharides production from agro-wastes as alternative low-cost source. **Trends in Food Science & Technology**, v. 91, p. 139–146, 2019.

DOMÍNGUEZ, Rubén; PATEIRO, Mirian; GAGAOUA, Mohammed; BARBA, Francisco J.; ZHANG, Wangang; LOURENÇO, José M. A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. **Antioxidants**, v. 8, n. 10, 2019.

DOUNY, Caroline et al. Fatty acid intake, biogenic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons exposure through the consumption of nine species of smoked freshwater fish from Cambodia. **Food Control**, v. 130, p. 108219, 2021.

DUFLOS, Guilherme; MARCEL, Moeda Vincent; CORNU, Marie; ANTINELLI, Jean-François; MALLE, Pierre. Determination of volatile compounds to characterize fish spoilage using headspace/mass spectrometry and solid-phase microextraction/gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n.4, p. 600-611, 2005.

ESTANECH, Amanda; OLIVEIRA, Nandara; AMORIM, Elizete; VALADÃO, Rômulo; TORREZAN, Renata; OLIVEIRA, Gesilene. Efecto de la adición de almidón de mandioca, agua e inulina sobre las características tecnológicas del paté bicuda (*Sphyrna tiburo*, Fowler, 1903). **Rev. chil. nutr.**, v.47 n.3, 2020.

FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation**. Rome, FAO, 2022.

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**. London, Ontario, Canada, 2002.

FENG, Xiao; TJIA, Joleen Yan Yi; ZHOU, Yige; LIU, Qin; FU, Caili; YANG, Hongshun. Effects of tocopherol nanoemulsion addition on fish sausage properties and fatty acid oxidation, **LWT**, v.118, 2020.

FERREIRA, Priscilla Maia. **Elaboração de pate com resíduo da filetagem da piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*) e utilização de polpa de maracujá amarelo (*Passiflora edulis*) como agente antioxidante**. 2011. 147 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, Belém - Pará, 2011.

FOGAÇA, Fabiola Helena dos Santos; SANT'ANA, Léa Silvia. Lipid oxidation in fishes: action mechanism and prevention. **Archives of Veterinaty Science**, v. 14, n. 2, p. 117-127, 2009.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. Tradução: Andréia Bianchini ... [et al.]; Revisão técnica: Eduardo Cesat Tondo. – 2. Ed. – Porto Alegre: Artmed, 2013

FREIRE, Thayná Thamires; SILVA, Anna Lívia Tolentino e.; FERREIRA, Bruna Karoline Oliveira; SANTOS, Thiago Moreira dos. Lactic acid bacteria its characteristics and importance: review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, 2021.

FUREY, A.E.; HOECHE, U.; MCLAUGHLIN, C.; NOCI F. Incorporation of roe, milt and liver from plaice (*Pleuronectes platessa*), herring (*Clupea harengus*) and cod (*Gadus morhua*) in newly developed seafood Pâtés: Sensory evaluation by teenage consumers in Ireland and their attitudes to seafood. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 28, 2022.

FURTADO, Bruna Brasil Rodrigues; FARIÑA, Luciana Oliveira de. *Lactobacillus acidophilus*: functional effect as an adjuvant in oncological therapy and prevention of the development of Colorectal Cancer. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v.4, n.1, p.3923-3935, 2021.

GANDEMER, G.; ZANARDI, E.; CHIZZOLINI, R.; NOVELLI, E.; MEYNIER, A. Volatile compounds of commercial Milano salami. **Meat Science**, v. 51, n. 2, p. 175-183.

GANESAN, Balasubramanian; BROTHERSEN, Carl; MCMAHON, Donald J. Fortification of Foods with Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, p. 98-114, 2014.

GIBSON, R. Glenn; HUTKINS, Robert; SANDERS, Mary Ellen; PRESCOTT, Susan L.; REIMER, Raylene A.; SALMINEN, Seppo J.; SCOTT, Karen; STANTON, Catherine; SWANSON, Kelly S.; CANI, Patrice D.; VERBEKE, Kristin; REID, Gregor. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 14, p. 491–502, 2017.

GOUVÊA, Fernanda de Jorge; OLIVEIRA, Vanessa Sales de; MARIANO, Barbara Jardim; TAKENAKA, Nayara Ayumi Rocha; GAMALLO, Ormino Domingues; FERREIRA, Micheli da Silva; SALDANHA, Tatiana. Natural antioxidants as strategy to minimize the presence of lipid oxidation products in canned fish: Research progresss current trends na future perspectives. **Food Research International**, v. 173, n. 1, p. 113314, 2023.

GU, Gingzhou; YIN, Yan; YAN, Xiaojia; LIU, Xuebo; LIU, Fuguo; MCCLEMENTS, David Julian. Encapsulation of multiple probiotics, synbiotics, or nutrabiobiotics for improved health effects: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 309, 2022.

GU, Shimin; YANG, Dong; LIU, Chengolong; XUE, Wentong. The role of probiotics in prevention and treatment of food allergy. **Food Science and Human Wellness**, v. 12, n. 3, p. 681-690, 2023.

GUIMARÃES, Renata Rangel; VENDRAMINI, Ana Lúcia do Amaral; LEITE, Selma Gomes Ferreira; SANTOS, Antônio Carlos dos; MIGUEL, Marco Antônio Lemos . *Bifidobacterium animalis* aprisionada em filme comestível para produção de doce probiótico à base de surimi. **Ciência e Tecnologia do Pescado: Uma Análise Pluralista**. São Paulo: Editora Científica, v. 1, n. 9, p. 127-141, 2020.

GUIMARÃES, Renata Rangel; VENDRAMINI, Ana Lúcia do Amaral; SANTOS, Antônio Carlos dos; LEITE, Selma Gomes Ferreira; MIGUEL, Marco Antônio Lemos. Development of probiotic beads similar to fish eggs. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 968-973, 2013.

HARRIS, C. M., E WILLIAMS, S. K. The antimicrobial properties of a vinegar-based ingredient on Salmonella Typhimurium and Psychrotrophs inoculated in ground chicken breast meat and stored at 3±1°C for 7 day. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, n.1, p. 118-123, 2019.

HENDLER, Robert; ZHANG, Yue. Probiotics in the treatment of colorectal cancer. **Medicines**, v. 5, n. 3, p. 101, 2018.

HERMES, Diego Handeri; ALMEIDA, Sersie Lessa Antunes Costa; FERNANDES, Alice Faria Santos; DELFRARO, Diogo Ordonez; OLIVEIRA, Helena Ribeiro de; PEREIRA, João Pedro; TEIXEIRA, Lorena Galdino; PEREIRA, Matheus Victor; MARQUES, Natália de Azevedo; LEAL, Priscilla da Cunha; SANTOS, João Paulo da Rocha. Terapêutica disponível para a Doença hepática gordurosa não alcoólica e sua relação com a evolução do diabetes melito tipo 2: uma revisão de literatura / Available therapy for non-alcoholic fatty liver disease and its relationship with the evolution of type 2 diabetes mellitus: a literature review. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 4, p. 11131–11145, 2020.

HEWAVITHARANA, Geeth G.; PERERA, Dilini N.; NAVARATNE, S.B.; WICKRAMASINGHE, I. Extraction methods of fat from food samples and

preparation of fatty acid methyl esters for gas chromatography: A review. **Arabian Journal of Chemistry**, v.13, n. 8, p. 6865-6875, 2020.

HILL, Colin; GUARNER, Francisco; REID, Gregot; GIBSON, Glen R.; MERENSTEIN, Daniel J.; POT, Bruno; MORELLI, Lorenzo; CANANI, Roberto Berni; FLINT, Harry J; SALMINEN, Seppo; CALDER, Philip C.; SANDERS, Mary Ellen. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology e Hepatology**, v. 11, p. 506-514, 2014.

HSIEH, R. J.; E KINSELLA, J. E. Oxidation of Polyunsaturated Fatty Acids: Mechanisms, Products, and Inhibition with Emphasis on Fish. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 33, p. 233–341, 1989.

HU, Yang; *et al.* Marine Omega-3 Supplementation and Cardiovascular Disease: An Updated Meta-Analysis of 13 Randomized Controlled Trials Involving 127.477 Participants. **Journal of the American Heart Association**, 2019.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microrganismos em alimentos 8: utilização de dados para avaliação do controle de processo e aceitação de produto/International Commission on Microbiological Specifications for Foods**; tradução Bernadette D. G. M. Franco, Marta H. Taniwaki. Mariza Landgraf, Maria Tereza Destro. – São Paulo: Blucher, 2015.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods – ICMSF. **Microorganisms in Food 7**. New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002.

ISLAM, Md. Zakirul; JAHAN, Nusrat; LIZA, Ruckshana Islam; SOJIB, Md. Shahriar Islam; HASAN Md. Sayed; FERDOUS, Tazia; ISLAM Mohammad Ashiqul; RASHID, Md. Harun-ur. Newly characterized *Lactiplantibacillus plantarum* strains isolated from raw goat milk as probiotic cultures with potent cholesterol-lowering activity. **Journal of Agriculture and Food Research**, 2022a.

JABEEN, Farhat; CHAUDHRY, Abdul Shakoor. Chemical compositions and fatty acid profiles of three freshwater fish species. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p. 991-996, 2011.

LIU, YU; WANG, Yizhen; WANG Zcheming; CAI, Shihai; ZHU, Beiwei; DONG, Xiuping. Recent advances in fishy odour in aquatic fish products, from formation to control. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 56, n. 10, p. 4959-4969, 2021

LORENZO, Jose M.; MUNEKATA, Paulo E.; DOMINGUEZ, Ruben; PATEIRO, Mirian; SARAIVA, Jorge A.; FRANCO, Daniel. Main Groups of Microorganisms of Relevance for Food Safety and Stability: General Aspects and Overall

Description. **Innovative Tchnologies for Food Preservation**, p. 53-107, 2018.

MACEDO, Leandro Levate; VIMERCATI, Wallaf Costa; ARAÚJO, Cintia da Silva. Fructooligosaccharides: nutritional, technological and sensory aspects. **Braz. J. Food Technol** v. 23, 2020.

MACHADO, Thaís Moron. Embutidos de pescado. In: GONÇALVES, Alex Augusto. Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação. São Paulo: Editora Atheneu, p. 262-270, 2011.

MACIEL, Erika da Silva; SAVAY-DA-SILVA, Luciana Kimie; GALVÃO, Juliana Antunes; OETTER, Marília. Atributos de qualidade do pescado relacionados ao consume na cidade de Corumbá, MS. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 41, n. 1, p. 199-206, 2015.

MALOMO, Adekumbi Adetola; ODUBANJO, Oreoluwa Faith; OLAWOYE, Babatunde; OLANIYI, Omowumi Ibipeju; LAWAL, Moyinoluwa Adenike; FASOGBON, Beatrice Mofoluwaso. Effect of turmeric on the quality of canned African catfish in tomato sauce during storage at 25 °C and 45 °C. **Food Science na Applied Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 12-21, 2022.

MANCERA-RODRIGUEZ, Liliana; MUÑOZ-RAMIREZ, Adriana Patricia; LOPEZ-VARGAS, Jairo Humberto; SIMAL-GANDARA, Jesus. Development, characterization and stability of a white cachama pâté-type product (*Piaractus brachypomus*). **Food Chem**, vol. 375, 2022.

MARANGONI, Franca; AGOSTONI, Carlo; BORCHI, Claudio; CATAPANO, Alberico L.; CENA, Hellas; GHISELLI, Andrea; VECCHIA, Carlo La; LERCKER, Giovanni; MANZATO, Enzo; PIRILLO, Angela; RICCARDI, Gabriele, RISÉ, Patrizia; VISIOLI, Francesco; POLI, Andrea. Dietary linoleic acid and human health: Focus on cardiovascular and cardiometabolic effects. **Atherosclerosis**, v. 292, p. 90-98, 2020.

MARKOWIAK, Paulina; SLIZEWSHA, Katarzyna. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. **Nutrients**, v. 9, n. 9, 2017.

MARTINS, Artur J.; *et al.* Characterization of Enriched Meat-Based Pâté Manufactured with Oleogels as Fat Substitutes. **Gels**, v. 6, n. 2, 2020.

MATTOS, Gabriela Nunes. **Obtenção de salsicha de tilapia usando antioxidante natural a base de resíduos do processamento de uva**. 2017. 70 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2017.

MENEZES, Naércio A. Systematics and evolution of the tribe acestrorhynchini (pisces, Characidae). **Arquivos de Zoologia**, v. 18, 1969.

MIYASHITA, Kazuo; UEMURA, Mariko; HOSOKAWA, Masashi. Effective Prevention of Oxidative Deterioration of Fish Oil: Focus on Flavor

Deterioration. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 9, p. 209-226, 2018.

MOHAN, Anand; ROY, Anupam; DUGGIRALA, Krishnabrunda; KLEIN, Loren. Oxidative reactions of 4-oxo-2-Nonenal in meat and meat products. **LWT**, v. 165, 2022

MOHANTY, Bimal P.; SANKAR, T. V.; GANGULY, Satabdi; MAHANTY, Arabinda; ANANDAN, R.; CHAKRABORTY, Kajal; PAUL, B. N.; SARMA, Debejit; DAYAL, J. Syama; MATHEW, Suseela; ASHA, K. K.; MITRA, Tandrina; KARUNAKARAN, D.; CHANDA, Soumen; SHAHI, Neetu; DAS, Puspita; DAS, Partha; AKHTAR, Md Shahbaz; VIJAYAGOPAL, P.; SRIDHAR, N. Micronutrient composition of 35 food fishes from India and their significance in human nutrition. **Biological Trace Element Research**, v. 174, n. 2, p. 448–458, 2016

MOHANTY, Bimal Prasanna; MOHANTY, Arabinda; GANGULY, Satabdi; MITRA, Tandrima; KARUNAKARAN, D.; ANANDAN, R. Nutritional composition of food fishes and their importance in providing food and nutritional security. **Food Chemistry**, v. 30, n. 293, p. 561-570, 2019.

MOSSO, Ana Laura; LEBLANC, Jean Guy; MOTTA, Carla; CASTANHEIRA, Isabel; RIBOTTA, Pablo; SAMMÁN, Norma. Effect of fermentation in nutritional, textural and sensorial parameters of vegan-spread products using a probiotic folate-producing *Lactobacillus sakei* strain. **LWT - Food Science and Technology**, v. 127, 2020.

NIELSEN, Nina Skall; JACOBSEN, Charlotte. Retardation of lipid oxidation in fish oil-enriched fish pâté-combination effects. **Journal of Food Biochemistry**, v. 37, p. 88-97, 2011.

NIETO, Gema; LORENZO, José M. Use of olive oil as fat replacer in meat emulsions. **Current Opinion in Food Science**, v. 40, p. 179-186, 2021.

OLIVARES-RUBIO, Hugo F.; ESPINOSA-AGUIRRE, Jesús Javier. Acetylcholinesterase activity in fish species exposed to crude oil hydrocarbons: A review and new perspectives. **Chemosphere**, v. 264, p. 128401, 2021.

OLIVEIRA, Luiza Scalcon de; WENDT, Guilherme Welter; CRESTANI, Ana Paula Jaqueline; CASARIL, Kérley Braga Pereira Bento. The use of probiotics and prebiotics can enable the ingestion of dairy products by lactose intolerant individuals. **Clinical Nutrition**, v. 41, n. 12, p. 2644-2650, 2022.

ÖZPOLAT, Emine. The effect of vacuum packaging on fish balls prepared from *Capoeta trutta* with different concentrations of liquid smoke. **Food Science and Technology**, v. 42, n. e28722, 2022.

PAPADOPOULOU, Olga S.; ARGYRI, Anthoula A.; VARZAKIS, Evangelos E., TASSOU, Chrysoula C.; CHORIANOPOULOS, Nikos G. Greek functional Feta cheese: Enhancing quality and safety using a *Lactobacillus plantarum* strain with probiotic potential. **Food Microbiology**, v. 74, p. 21–33, 2018.

PENG, Kaidi; KOUBAA, Mohamed; OLIVIER, Bals; VOROBIEV, Eugene. Recent insights in the impact of emerging technologies on lactic acid bacteria: A review. **Food Research International**, v. 137, 2020.

PERINI, João Ângelo de Lima et al. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 1075-1086, 2010.

PINHEIRO, Ana Clara Marques; NUNES, Cleiton Antônio; VIETORIS, Vladimir. Sensomaker: A Tool For Sensorial Characterization Of Food Products. **Ciênc, agrotec**, v. 37, n. 3, p. 199-201. 2013.

PINHEIRO, Joaquina; RODRIGUES, Sidônio; MENDES, Susana; MARANHÃO, Paulo; GANHÃO, Rui. Impact of Aqueous Extract of Arbutus unedo Fruits on Limpets (Patella spp.) Pâté during Storage: Proximate Composition, Physicochemical Quality, Oxidative Stability, and Microbial Development. **Foods**, v. 9, n. 2, p. 807, 2020.

PORFÍRIO, Talitha Maria. **Viabilidade de microrganismos probióticos em pate de pescado em diferentes embalagens**. 2020, 72 f. Dissertação (Mestrado) – Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Cuiabá, 2020.

PUJARI, Radha; BANERJEE, Gaitam. Impact of prebiotics on immune response: From the bench to the clinic. **Immunology & Cell Biology**, v. 99, n. 3, p. 255–273, 2021.

RACIOPPO, Angela; SPERANZA, Barbara; CAMPANIELLO, Daniela; SINIGAGLIA, Milena; CORBO, Maria Rosaria; BEVILACQUA, Antonio. Fish Loss/Waste and Low-Value Fish Challenges: State of Art, Advances, and Perspective. **Foods**, v. 10, n. 11, 2021.

RAHARJO, Sri.; SOFOS, John N.; SCHMIDT, Glenn R. Improved Speed, Specificity, and Limit of Determination of an Aqueous Acid Extraction Thiobarbituric Acid-Cig Method for Measuring Lipid Peroxidation in Beef. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, 1992.

RAHIM, Muhammad Abdul; SAEED, Farhan; KHALID, Waseem; HUSSAIN, Muzzamal; ANJUM, Faqir M. Functional and nutraceutical properties of fructooligosaccharides derivatives: a review. **International Journal of Food Properties**, v. 24, n. 1, p. 1588-1602, 2021.

RÊGO, Fernando Luiz Trindade. **Estudo do perfil de ácidos graxos e a razão entre ômega 6/ ômega 3 em pescado**. 2012. 196 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Salvador, 2012.

RENES, E. et al. Study of the conjugated linoleic acid synthesis by Lactobacillus strains and by different co-cultures designed for this ability. **Journal of Functional Foods**, v. 35, p. 74-80, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2017.05.015>

REZENDE, Clara Lozano e; CASTANIA, Vinícius de Paula; REZENDE-LAGO, Naiá Carla Marchi de; MARCHI, Patrícia Gelli Feres de; SILVA, Lidianne Assis; AMORIM, Giovanna Carvalho de; VITAL, Jennifer; JUSTO, Karolayne Negreiros; SOUZA, Marinna Louzada de; BRANDÃO, Ludmilla da Silva; TORRES, Osmar da Silda; MAIA, Guaracy; MESSIAS, Cassio Toledo. Microbiological quality of food. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, 2021.

RIBEIRO, D. S.; CALIXTO, F. A. A.; GUMARÃES, J. L. B.; ARONOVICH, M.; KELLER, L. A. M.; MESQUITA, E. F. M. Fish products made from trawl fishery waste: physical, chemical, microbiologic, and toxicological analysis. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 70, n. 1, p. 238-246, 2018.

ROSA, Lorena Pereira de Souza; CRUZ, Daiany de Jesus. Applicability of fructooligosaccharides as functional food. **Nutrivisa – Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, v. 4, n. 1, 2017.

RYU, Bomi; SHIN, Kyung-Hoon; KIM, Se-Kwon. Muscle Protein Hydrolysates and Amino Acid Composition in Fish. **Mar. Drugs**, v. 19, n. 7, 2021.

SANTOS, Damaris Alves dos; AMARAL, Gabriela Vieira do; SARTORI, Fabio; SIMAS, Jessica do Vale. The importance of hygienic and sanitary conditions in slaughterhouses: A literature review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, 2021.

SANTOS, Jackes Mancke; TAVARES, Rafael Aldrigh; FERNANDES, João Morato; SOUZA, Daiane Machado; POUEY, Juvêncio Luiz Osório Fernandes; PIEDRAS, Sergio Renato Noguez. Ownership of fishing areas and use of fishing resources by artisanal fishermen in a pond in southern Brazil. **Boletim de Indústria Animal**, v. 71, n. 1, p. 71–78, 2014.

SANTOS, Wilson. Consumo *per capita* nacional. **Seafood Brasil**, v. 43, p. 54-58, 2022.

SCHLICH, Pascal; PINEAU, Nicolas. **Chapter 11: Temporal Dominance of Sensations**. Time-Dependent Measures of Perception in Sensory Evaluation, p. 283–320, 2017.

SILVA, Bruna Vieira da; CARDOSO, Lucas Guimarães, FERREIRA, Mariza Alves; MAFRA, Jéssica FERREIRA, EVANGELISTA-BARRETO, Norma Suely. Scientific and technological prospection of functional products based on fish pate. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, 2022a.

SILVA, Francisco A. M.; BORGES, M. Fernanda M.; FERREIRA, Margarida A. Methods for the evaluation of the degree of lipid oxidation and the antioxidant activity. **New Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SILVA, Maritiele Naissinger da; TAGLIAPIETRA, Bruna Lago; PIVETTA, Franciele Pozzebon; RICHARDS, Neila Silvia Pereira dos Santos. Nutritional,

functional and sensory profile of added butter from *Lactobacillus acidophilus* encapsulated and hyposodium salt. **LWT**, v.161, 2022b.

SINGH, Sudhir P.; JADAUN, Joyoti Singh; NARNOLIYA, Lokesh K.; PANDEY, Ashok. Prebiotic Oligosaccharides: Special Focus on Fructooligosaccharides. Its Biosynthesis and Bioactivity. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 183, p. 613–635, 2017.

SORO, Arturo B.; NOORE, Shaba; HANNON, Shay; WHYTE, Paul; BOLTON, Declan J.; O'DONNELL, Colm; TIWARI, Brijesh K. Current sustainable solutions for extending the shelf life of meat and marine products in the packaging process. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 29, 2021.

STAHNKE, L; ZANARDI, E; DORIGONI, V; SUNESEN, L.O. Volatile compounds released during ripening in Italian dried sausage. **Meat Science**, v. 58, n. 1, p. 93-97, 2001.

STOHR, V.; JOFFRAUD, J.J.; CARDINAL, M.; LEROI, F. Spoilage potential and sensory profile associated with bacteria isolated from cold-smoked salmon. **Food Research International**, v.34, n. 9, p. 797-806, 2001.

TAKAGUI, Fábio Hiroshi; VENTURELLI, Natalia Bortolazzi; DIAS, Ana Lúcia; SWARÇA, Ana Claudia; VICARI, Marcelo Ricardo; FENOCCHIO, Alberto Sergio; GIULIANO-CAETANO, Lucia. The importance of pericentric inversions in the karyotypic diversification of the species *Loricariichthys anus* and *Loricariichthys platymetopon*. **Zebrafish**, v. 11, n. 4, p. 300–305, 2014.

TAO, Ling. Oxidation of polyunsaturated fatty acids and its impact on food quality and human health. **Adv Food Technol Nutr Sci Open J.**, v. 1, n. 6, p. 135-142, 2015

TRIDIP, K. das; PRADHAN, Shrabani; CHAKRABARTI, Sudipta; MONDAL, Keshab, Chandra; GHOSH, Kuntal. Current status of probiotic and related health benefits. **Applied Food Research**, v. 2, n. 2, 2022.

TYUTKOV, Nikita; ZHERNYAKOVA, Anastasia; BIRCHENKO, Artyom; EMINOVA, Elmira; Nadtochii, Liudmila; Baranenko, Denis. Probiotics viability in frozen food products. **Food Bioscience**, v. 50, 2022.

UENO, Yuji; MIYAMOTO, Nobukazu; YAMASHIRO, Kazuo; TANAKA, Ryota; HATTORI, Nobutaka. Review: Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Stroke Buerden. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 22, p. 5549, 2019.

VAN DEN DOOL, H. E KRATZ, P.D. A Generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. **Journal Chromatography A**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VANITHA, M.; DHANAPAL, K.; REDDY, G. Vidya Sagar. Quality changes in fish burger from *Catla* (*Catla Catla*) during refrigerated storage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p.1766–1771, 2015.

VARLET, Vincent; PROST, Carole; SEROT, Thierry. Volatile aldehydes in smoked fish: Analysis methods, occurrence and mechanisms of formation. **Food Chemistry**, v. 105, n. 4, p.1536-1556, 2007.

WEN, Yun-Qi; XUE, Chang-Hu; ZHANG, Hong-Wei; XU, Li-Li; WANG, Xiao-Han; BI, Shi-Jie; XUE, Qian-Qian; XUE, Yong; LI, Zhao-Jie; VELASCO, Joaquín; JIANG, Xiao-Ming. Concomitant oxidation of fatty acids other than DHA and EPA plays a role in the characteristic off-odor of fish oil, **Food Chemistry**, v. 404, 2023.

WU, Haizhou; RICHARDS, Mark P.; UNDELAND, Ingrid. Lipid oxidation and antioxidant delivery systems in muscle food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 2, p. 1275-1299, 2022a.

WU, Tianle; WANG, Meiqian; WANG, Peng; TIAN, Honglei; ZHAN, Ping. Advances in the Formation and Control Methods of Undesirable Flavors in Fish. **Foods**, v. 11, n. 16, 2022b.

YILDIZ-TURP, Güle; SERDAROGLU, Meltem. Effects of using plum puree on some properties of low fat beef patties. **Meat Science**, v. 86, n. 4, p. 896-900, 2010.

ZHANG, Yuxiang; WEI, Jianping; YUAN, Yahong; YUE, Tianli. Diversity and characterization of spoilage-associated psychrotrophs in food in cold chain. **International Journal of Food Microbiology**, v. 290, p. 86-95, 2019.

ZHENG, Jinshui; WITTOUCK, Stijn; SALVETTI, Elisa; FRANZ, Charles M.A.P.; HARRIS, Hugh M.B.; MATTARELLI, Paola; O'TOOLE, Paul W.; POT, Bruno; VANDAMME, Peter; WALTER, Jens; WATANABE, Koichi; WUYTS, Sander; FELIS, Giovanna E.; GÄNZLE, Michael G.; LEBEER, Sarah. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v. 70, n. 4, p. 2782-2858, 2020.

Apêndices

Apêndice A - Avaliação dos painelistas no intervalo de tempo em que a taxa de dominância é $\geq 90\%$ em segundos de cada atributo da análise sensorial.

Tempo 90% max (s)										
Atributos	Patê de Tambica (dias)					Patê de Viola (dias)				
	0	15	30	45	60	0	15	30	45	60
Gosto desagradável	0,69	10,4	0	0	1,4	10,4	0,8	0	0	4
Gosto agradável	2,9	3,8	2,2	2	1,3	3,8	1,9	1,5	1,1	1,2
Rançoso	1,6	5	1,2	0,6	0,80	5	0,8	3	1	20,8
Gorduroso	2,1	0,79	1,1	1,5	1	0,79	14,5	1,1	1,4	0,79
Oxidado	6,5	0,80	0	0	4,4	0,80	1,8	11,9	1,4	1
Ardido	3,6	7,9	1,2	2,8	4,2	7,9	0,79	15,8	2,8	1,2
Enjoativo	11,4	1,2	11,7	1	1	1,2	0,80	19,6	22,7	3,4
Característico	3,5	25,1	0,3	2,7	5,5	25,1	0,30	2	2,6	1,3

Apêndice B -Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO- TCLE

Pelo presente consentimento livre e esclarecido eu, _____, CPF _____, declaro que fui informado(a), de forma clara e detalhada, dos objetivos, da justificativa e da forma de trabalho desta pesquisa, através de encontro individual, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção.

TÍTULO: Avaliação da estabilidade e qualidade de patês de *Oligosarcus robustus* e *Loricariichthys anus* com potencial probiótico e prebiótico.

DESTAQUES SOBRE O TEMA DA PESQUISA: O pescado é um importante componente para a dieta humana, sendo rico em proteínas, ácidos graxos poli-insaturados e micronutrientes. Justifica-se a referida pesquisa, em virtude da baixa incidência de indivíduos que consomem pescado, o que torna importante a elaboração de produtos que além de nutrir, forneçam esses ácidos graxos poli-insaturados aos indivíduos, com a escolha de um produto à base de pescado com potencial probiótico e prebiótico. No entanto, esse produto pode apresentar a oxidação lipídica, pois é um produto com alta suscetibilidade dos ácidos graxos insaturados e manifestar mudanças em cor, textura, odor e valor nutricional. Com a finalidade de avaliar a estabilidade lipídica e a qualidade do produto durante o armazenamento em refrigeração, é importante avaliá-lo também sensorialmente, e para isso necessitamos que voluntários participem do nosso estudo.

OBJETIVOS: Fui informado(a) de que o objetivo desta pesquisa é avaliar a estabilidade e qualidade de patês de viola e tambica com potencial probiótico e prebiótico contendo *Lactobacillus acidophilus* e frutooligosacarídeos, através dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensorial, durante o período de armazenamento.

PROCEDIMENTOS: Fui informado(a) de que receberei duas amostras do produto, para que eu avalie as características sensoriais do produto. A avaliação será através do teste de dominância temporal das sensações quanto a oxidação lipídica nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento do produto. As duas amostras de patês, serão entregues em diferentes horários para não haver comparações entre as mesmas. A duração estimada para cada avaliação é de, no máximo, 15 minutos por avaliação.

INGREDIENTES DO PRODUTO: Filés dos peixes viola (*Oligosarcus robustus*) e tambica (*Loricariichthys anus*), água, cloreto de sódio, aditivos (sais de cura, antioxidante e fixador de cor, polifosfato) pimenta branca, alho, cebola, páprica, óleo de girassol, frutooligosacarídeo e bactéria benéfica (probiótica).

RISCOS E POSSÍVEIS REAÇÕES: Fui informado(a) de que os riscos são mínimos, em consumir o produto. Porém, existem restrições para pessoas que possuem algum tipo de alergia ou intolerância a algum(ns) ingrediente(s) do produto. O patê de peixes viola e tambica, não contém glúten, nem lactose. Declaro que não possuo nenhum tipo de alergia e/ou reação adversa a este produto. No entanto, em caso de alguma reação adversa será interrompida, imediatamente, a avaliação do alimento e de imediato o participante será conduzido para atendimento clínico, em uma Unidade de Saúde mais próxima.

BENEFÍCIOS: O benefício de participar da pesquisa, relaciona-se ao fato de que os resultados irão contribuir para a diversificação de produtos à base de pescado para o mercado consumidor. E na obtenção de um alimento funcional: contendo probiótico e prebiótico, que fornecem benefícios à saúde entre eles, a melhoria do trânsito gastrointestinal, redução do colesterol, fortalecimento e ativação do sistema imunológico, e um produto de pescado que possui aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais e ácidos graxos poli-insaturados, como o ômega-3. Possibilitará também, determinar o período que o produto poderá ser mantido armazenado em refrigeração, com estabilidade e qualidade garantida, pois o pescado é muito susceptível às alterações enzimáticas, oxidativas e microbiológicas.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA: A minha adesão à pesquisa ocorrerá de forma voluntária e nenhum tipo de penalidade será aplicado caso não seja do meu interesse participar. Aceitando em participar, terei a garantia de esclarecimentos, a qualquer momento, das eventuais dúvidas sobre a participação no projeto, de receber novas informações relevantes sobre o projeto, assim como da possibilidade de acesso aos dados pessoais da pesquisa. Ciente de que não terei custos, nem receberei pagamento ou recursos financeiros por participar desta pesquisa, assim como tenho o direito de desistir de participar e retirar meu consentimento a qualquer momento.

CONFIDENCIALIDADE: Estou ciente, que a minha identidade permanecerá confidencial, durante o estudo, e que os dados coletados só serão utilizados para fins de pesquisa.

CONSENTIMENTO: Ciente das informações citadas anteriormente, eu concordo em participar da avaliação sensorial do patê de peixe probiótico e prebiótico. Duas vias do TCLE, de igual conteúdo, serão assinadas e datadas sendo uma via destinada a mim (participante) e outra ao arquivo do pesquisador.

ASSINATURA: _____ DATA: ____ / ____ / ____

ASSINATURA DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL:

Patrícia Radatz Thiel
patiradatz@gmail.com – (53) 984454168

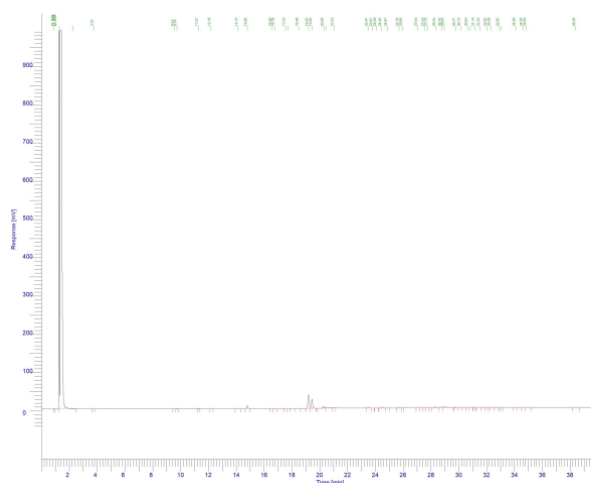
ASSINATURA DO ORIENTADOR

Dra. Ângela Maria Fiorentini
angefiore@gmail.com - (53) 99138-7367

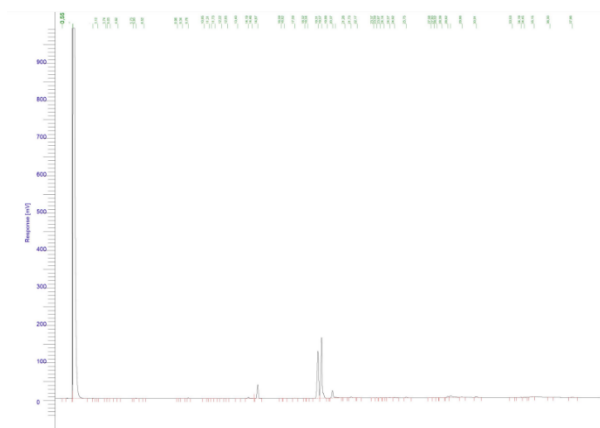
Comitê de Ética em Pesquisa – Faculdade de Medicina/UFPel – (53) 3310-1801

Apêndice C –Cromatogramas das análises de ácidos graxos

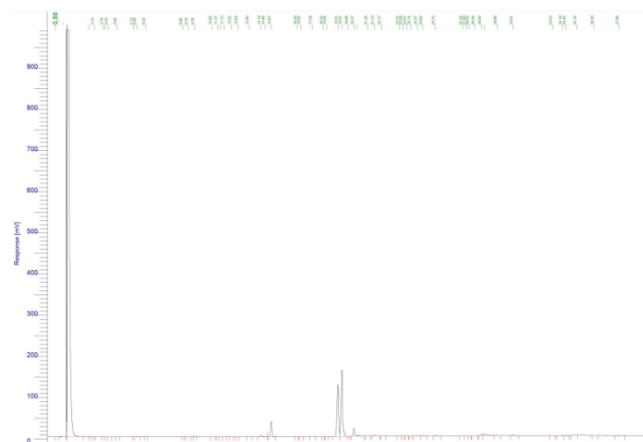
Apêndice C1. Cromatograma amostra Tambica tempo zero.



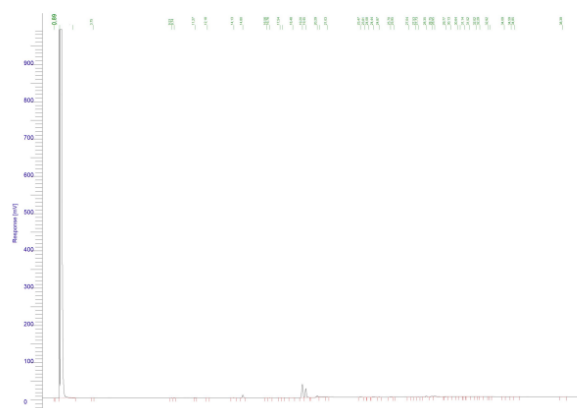
Apêndice C2. Cromatograma amostra Tambica tempo 15 dias.



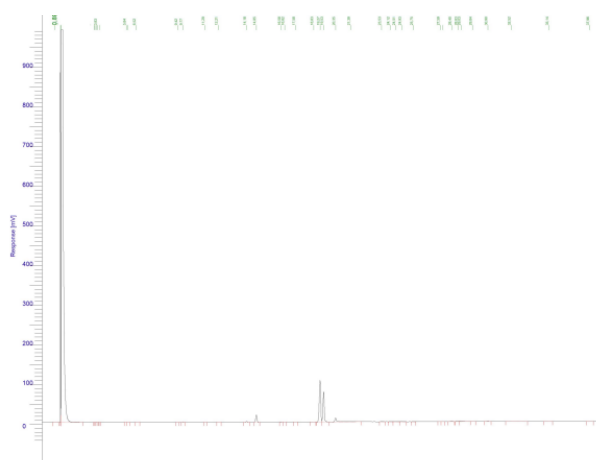
Apêndice C3. Cromatograma amostra Tambica tempo 30 dias.



Apêndice C4. Cromatograma amostra Tambica tempo 45 dias.

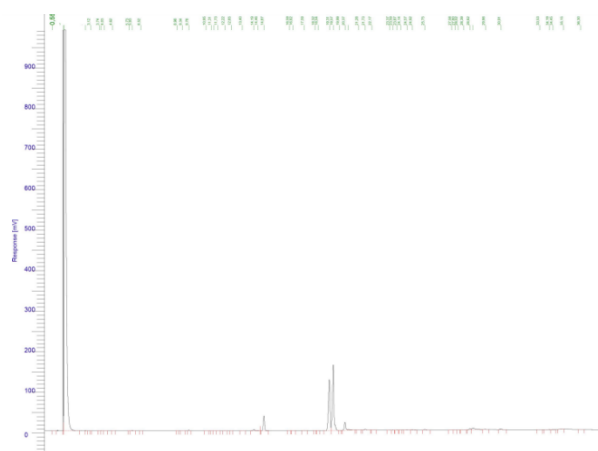


Apêndice C5. Cromatograma amostra Tambica tempo 60 dias.

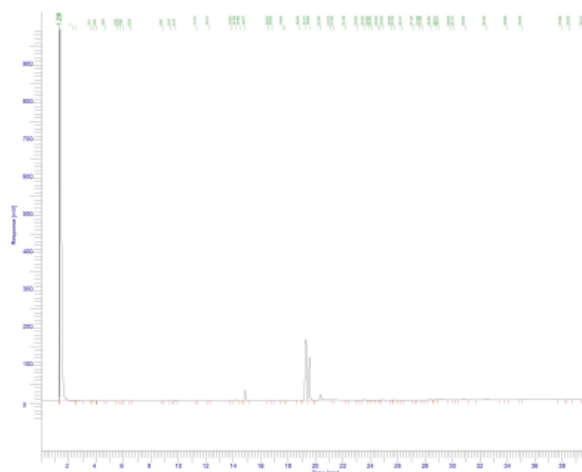


Apêndice D –Cromatogramas das análises de ácidos graxos

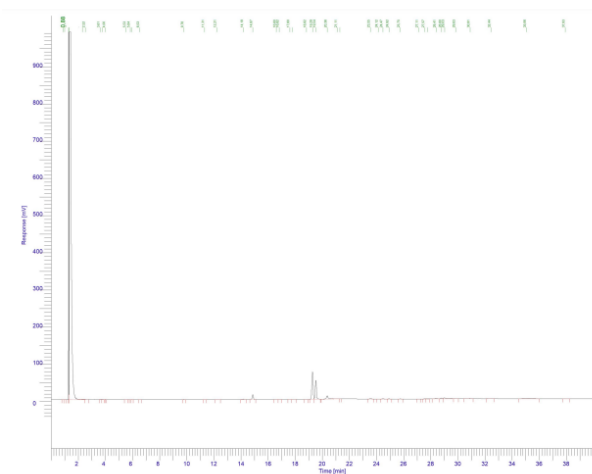
Apêndice D1. Cromatograma amostra Viola tempo zero.



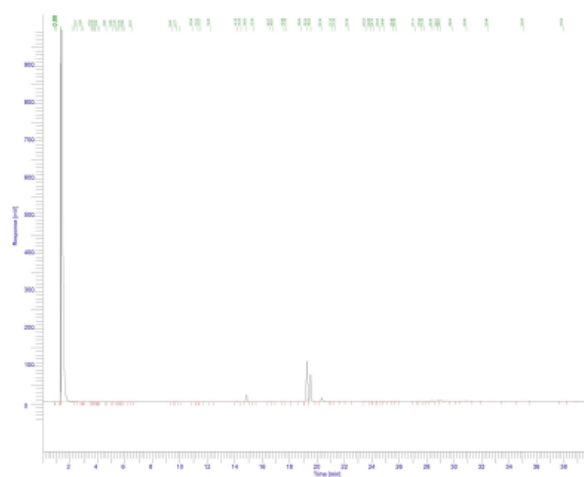
Apêndice D2. Cromatograma amostra Viola tempo 15 dias.



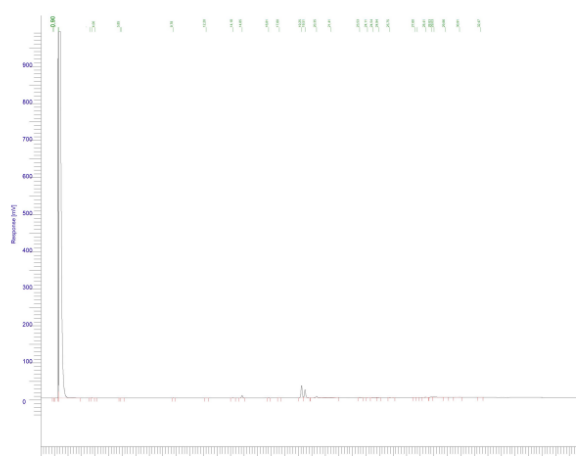
Apêndice D3. Cromatograma amostra Viola tempo 30 dias.



Apêndice D4. Cromatograma amostra Viola tempo 45 dias.

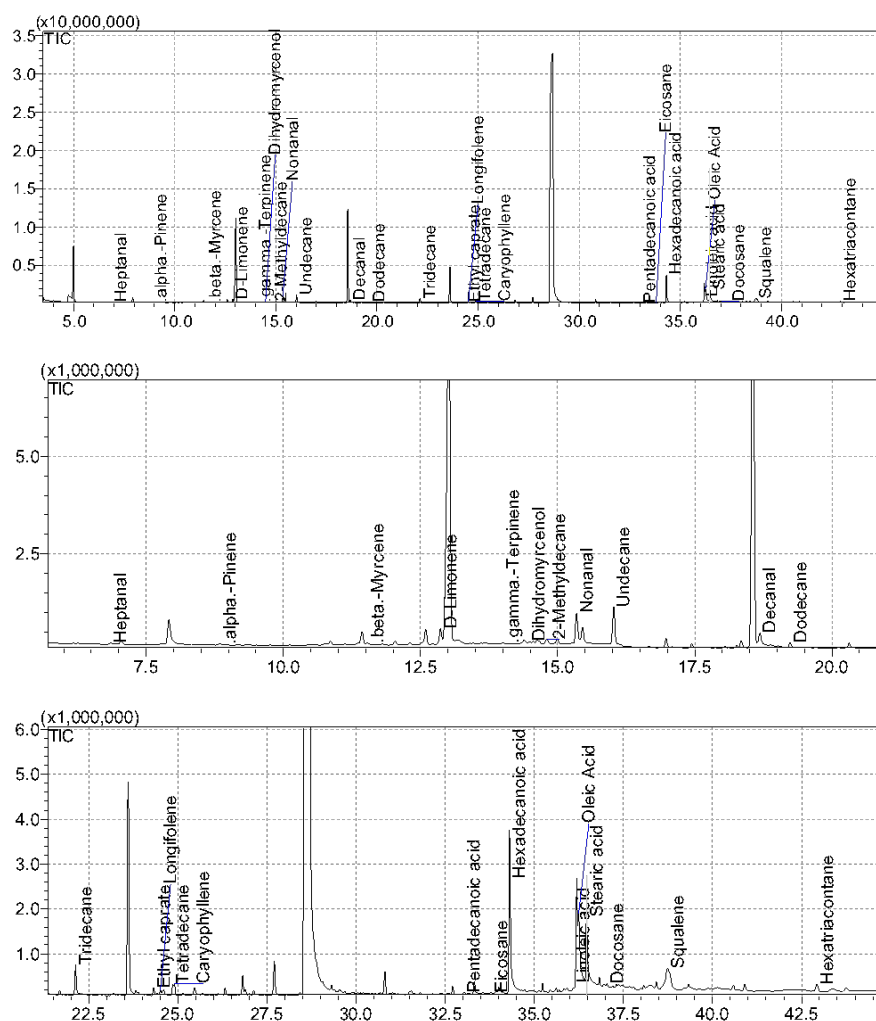


Apêndice D5. Cromatograma amostra Viola tempo 60 dias.

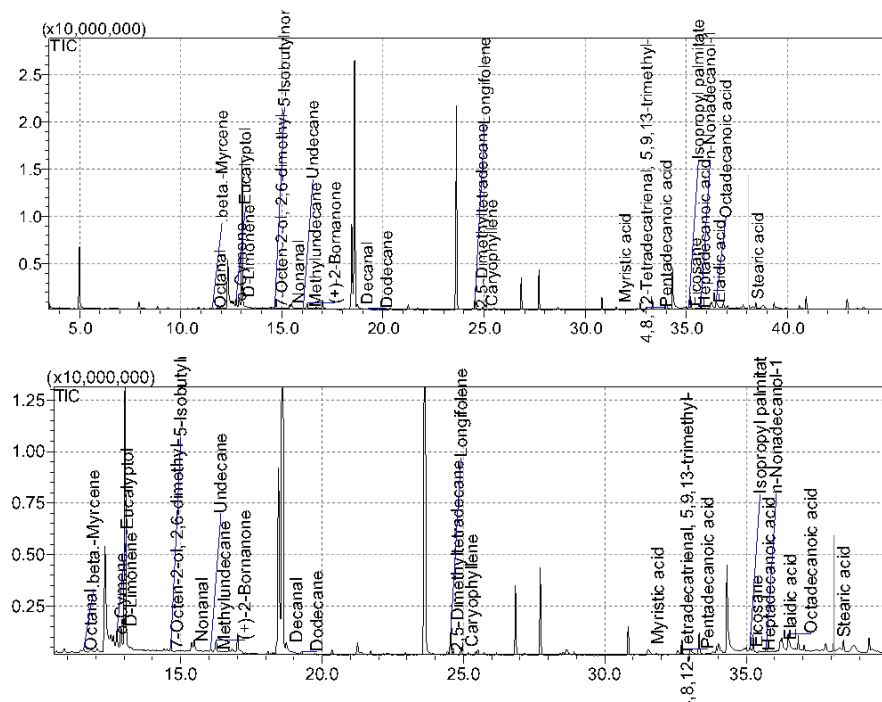


Apêndice E –Cromatogramas das análises de compostos orgânicos voláteis

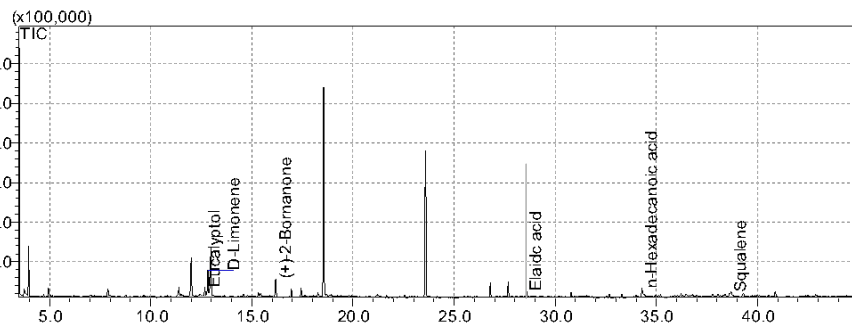
Apêndice E1. Cromatograma amostra Tambica tempo zero.



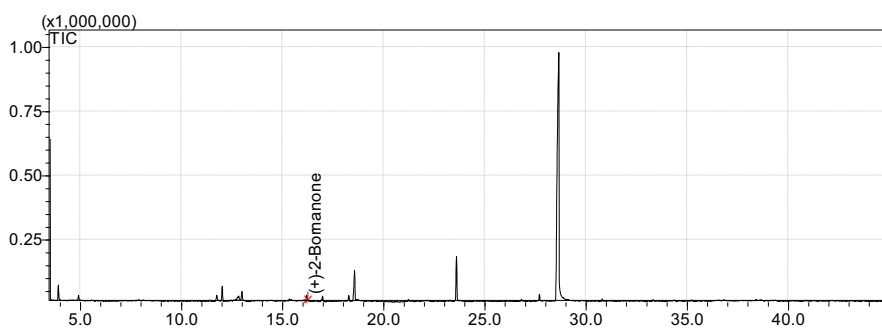
Apendice E2. Cromatograma amostra Tambica tempo 15 dias.



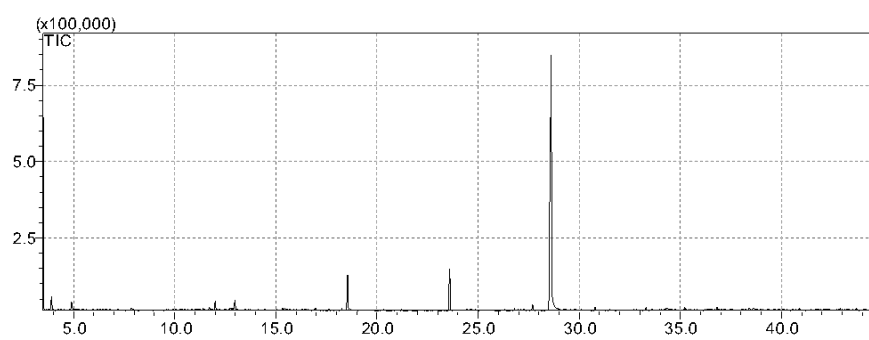
Apendice E3. Cromatograma amostra Tambica tempo 30 dias.



Apendice E4. Cromatograma amostra Tambica tempo 45 dias.

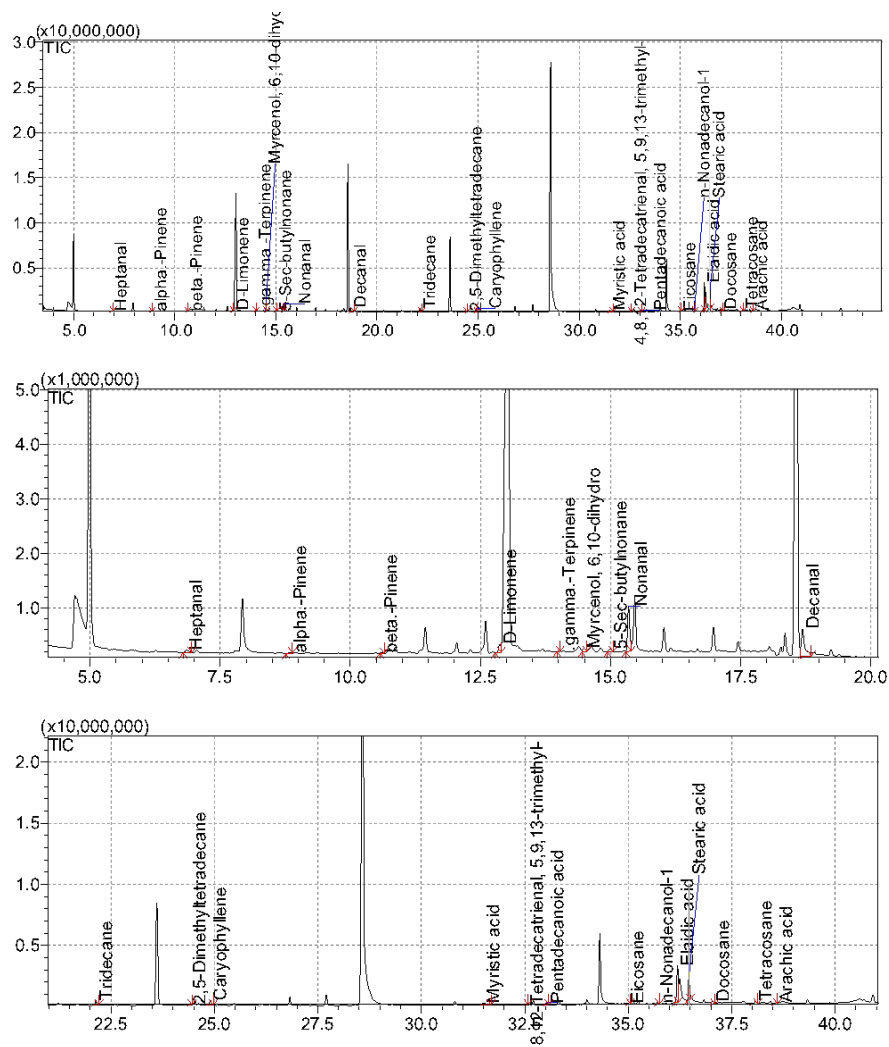


Apendice E5. Cromatograma amostra Tambica tempo 60 dias.

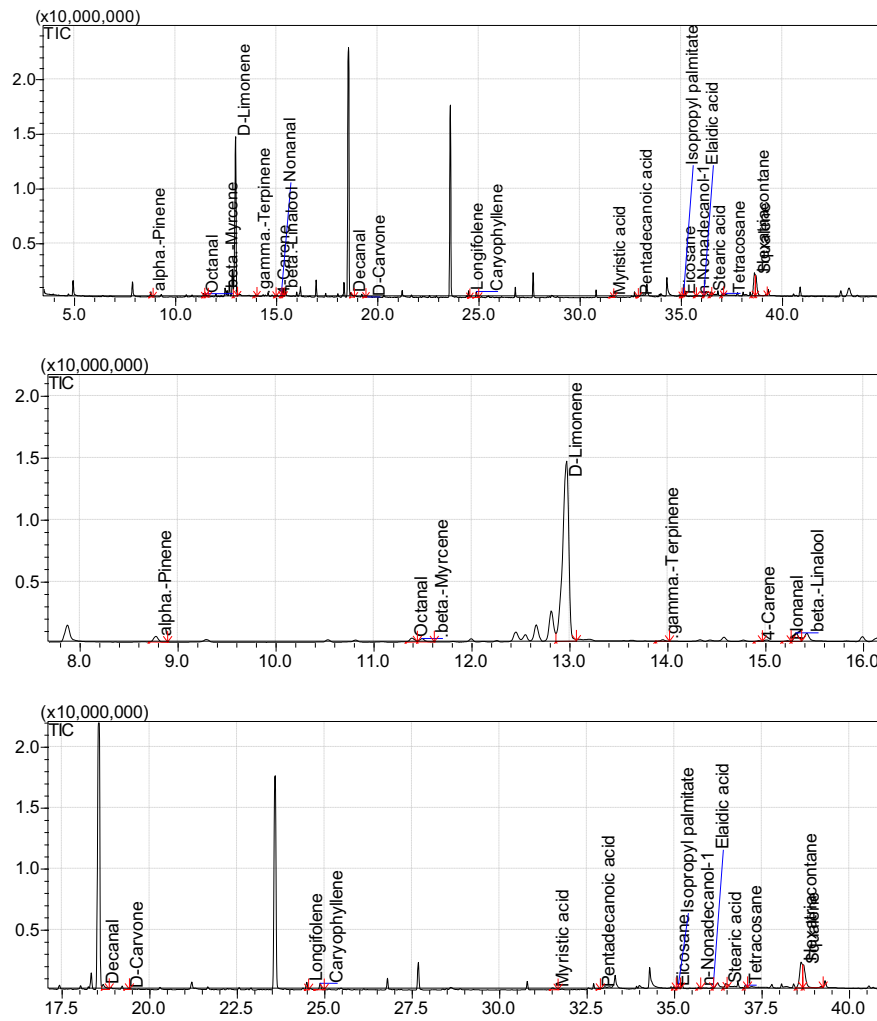


Apêndice F –Cromatogramas das análises de compostos orgânicos voláteis

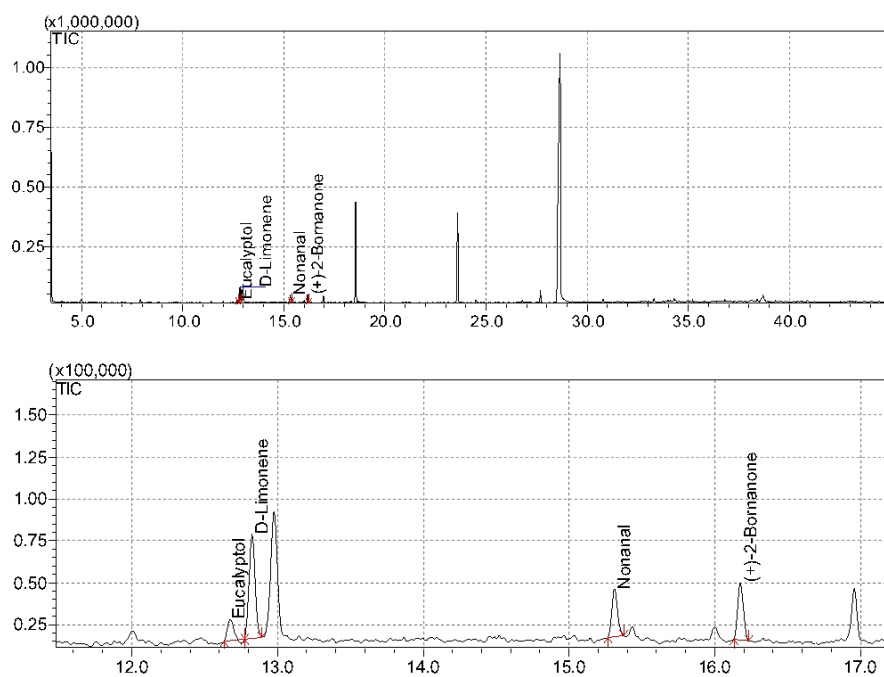
Apêndice F1. Cromatograma amostra Viola tempo zero.



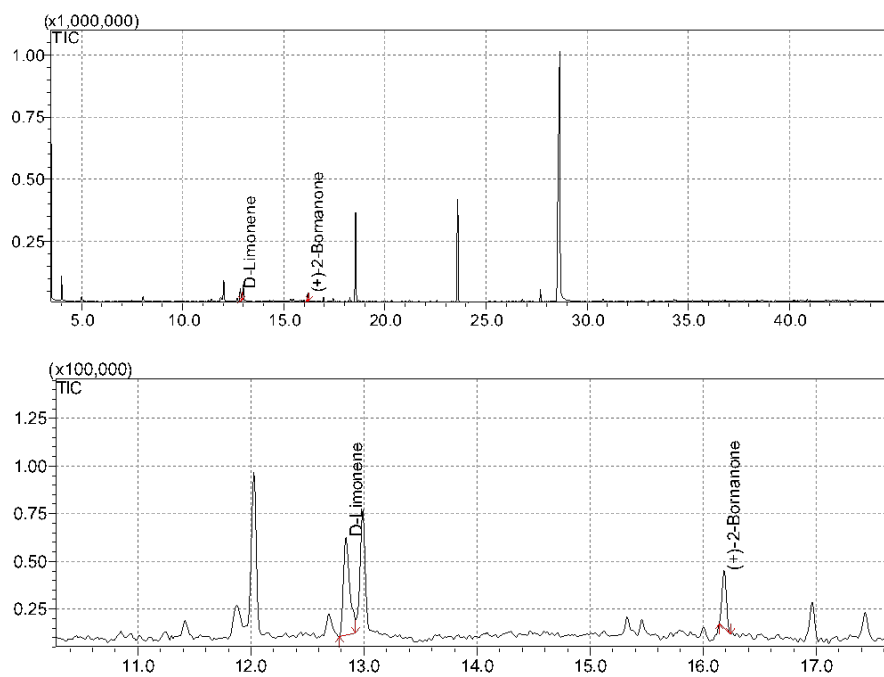
Apêndice F2. Cromatograma amostra Viola tempo 15 dias.



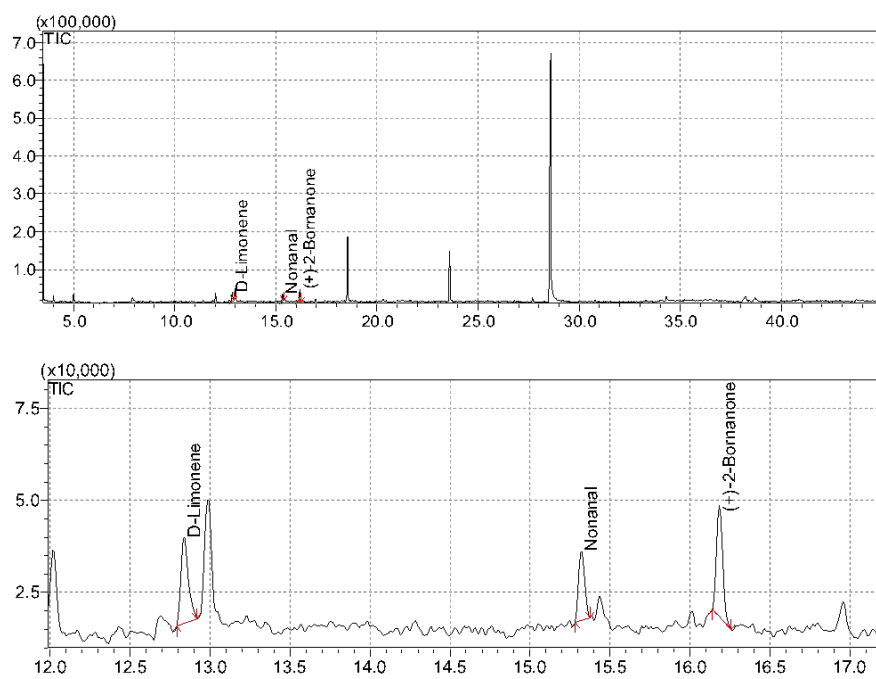
Apendice F3. Cromatograma amostra Tambica tempo 30 dias.



Apendice F4. Cromatograma amostra Viola tempo 45 dias.



Apêndice F5. Cromatograma amostra Viola tempo 60 dias.



Anexos

Anexo A - Parecer do comitê de ética

UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação da estabilidade e qualidade de patês de *Oligosarcus robustus* e *Loricariichthys anus* com potencial probiótico e prebiótico

Pesquisador: Patrícia Radatz Thiel

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 58089922.2.0000.5317

Instituição Proponente: Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.434.382

Apresentação do Projeto:

Conforme o pesquisador responsável:

Resumo

Alimentos funcionais tem cada vez mais atraído os consumidores, devido aos seus benefícios à saúde e podem conter adição de probióticos e prebióticos. Entretanto, para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios a partir de pescados, é importante realizar pesquisas sobre o índice de degradação e estimativa de vida útil. Os problemas relacionados com a qualidade e estabilidade de pescados durante o armazenamento podem ocorrer em virtude de fatores que causam mudanças inaceitáveis ao consumo do produto, que podem ser avaliados através de análises físicas (pH, aw), químicas (Índice de peróxidos, TBARs, compostos voláteis, ácidos graxos livres), microbiológicas (psicrótróicos e aeróbios mesófilos) e sensorial (cor, textura, odor, aparência). O objetivo do estudo é avaliar a estabilidade e qualidade de patê de viola e tambica contendo probiótico (*Lactobacillus acidophilus*) e prebiótico (frutooligossacarídeos), através dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensorial, durante o período de armazenamento. No estudo serão realizadas, nos períodos de 0, 15, 30, 45, e 60 dias, análises de pH, acidez titulável, determinação de ácidos graxos livres, TBARS, índice de peróxido, compostos voláteis, contagem de bactérias psicrótróficas e aeróbias mesófilas e viabilidade da bactéria probiótica do produto, além da análise sensorial e análise microbiológica como *Salmonella*/25g, *Clostridium perfringens*/g, *Estafilococos* coagulase positiva/g, *Escherichia coli*/g. No entanto, espera-se que a

Endereço: Av Duque de Caxias 250, prédio da Direção - Térreo, sala o3

Bairro: Fragata

CEP: 96.030-001

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3310-1801

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cepfamed@ufpel.edu.br