

Cultura starter em patê de pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*): Desenvolvimento e determinação do prazo comercial

Starter culture in pate amazonian painted (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*):

Development and determination of commercial term

Cultivo iniciador en paté pintado amazónico (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*):

Desarrollo y determinación de plazo comercial

Recebido: 23/08/2023 | Revisado: 24/09/2023 | Aceitado: 03/10/2023 | Publicado: 06/10/2023

Talitha Maria Porfírio

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8741-9143>
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Brasil
E-mail: talithamari@hotmail.com

Iara Oliveira Arruda

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8273-5796>
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Brasil
E-mail: iaraoliveiraarruda@gmail.com

Ariane Barbosa Alves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5758-018X>
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Brasil
E-mail: abalves0518@gmail.com

Edgar Nascimento

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7825-1948>
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Brasil
E-mail: edgar.nascimento@ifmt.edu.br

Marilu Lanzarin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9838-4011>
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Brasil
E-mail: marilu.lanzarin@ifmt.edu.br

Daniel Oster Ritter

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2737-841X>
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Brasil
E-mail: daniel.ritter@blv.ifmt.edu.br

Resumo

O presente estudo teve como objetivo elaborar um patê de pintado amazônico adicionado de cultura starter (*Staphylococcus xylosus* e *Pediococcus pensosaceus*), realizar sua caracterização e determinar o prazo comercial e desenvolver um modelo matemático preditivo para verificar a o crescimento da cultura. O patê foi preparado com pescado cozido e cultura starter. Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas do patê, que foram armazenados em embalagens de plástico e de vidro, durante 24 dias a 10°C. O patê apresentou conteúdos de umidade, cinzas, proteínas, lipídios e parâmetros de cor (próximo ao branco, vermelho e amarelo), estáveis durante estocagem e avaliação sanitária dentro dos padrões legais. O pH do produto diminuiu ao longo do tempo (de 6,43 para 5,11), enquanto as bases voláteis totais e a oxidação lipídica aumentaram (de 8,81 para 10,36 mgN/100g e de 0,35 para 0,52 MDA/Kg, respectivamente). As bactérias mesófilas aumentaram (de 6,66 para 9,25 log UFC/g), enquanto as bactérias psicrotóficas e *Pseudomonas* sp mostraram crescimento limitado (4,79 e 0 log UFC/g, respectivamente). As bactérias da cultura starter apresentaram um bom desenvolvimento (de 6,51 e 6,57 log UFC/g para 9,32 e 9,12 log UFC/g) e crescimento exponencial após uma curta fase de adaptação, conforme modelado pelo modelo de Gompertz. Baseando-se nesses resultados, o prazo comercial foi estabelecido em 15 dias, concluindo que desenvolver um patê de pescado adicionado de cultura starter proporcionará ao consumidor características atrativas.

Palavras-chave: Pescado; Cultura starter; Qualidade; Físico - química; Microbiologia preditiva.

Abstract

The present study aimed to prepare an Amazonian painted pâté added with starter culture (*Staphylococcus xylosus* and *Pediococcus pensosaceus*), carry out its characterization and determine the commercial deadline and develop a predictive mathematical model to verify the growth of the culture. The pâté was prepared with cooked fish and starter culture. Physicochemical and microbiological analyzes were carried out on the pâté, which was stored in plastic and glass packaging for 24 days at 10°C. The pâté presented moisture, ash, proteins, lipids and color parameters (close to

white, red and yellow) contents, stable during storage and sanitary evaluation within legal standards. Product pH decreased over time (from 6.43 to 5.11), while total volatile bases and lipid oxidation increased (from 8.81 to 10.36 mgN/100g and from 0.35 to 0.52 MDA/Kg, respectively). Mesophilic bacteria increased (from 6.66 to 9.25 log CFU/g), while psychrotrophic bacteria and *Pseudomonas* sp showed limited growth (4.79 and 0 log CFU/g, respectively). The bacteria in the starter culture showed good development (from 6.51 and 6.57 log CFU/g to 9.32 and 9.12 log CFU/g) and showed exponential growth after a short adaptation phase, as modeled by the Gompertz model. Based on these results, the commercial deadline was established at 15 days, concluding that developing a fish pâté added with starter culture will provide the consumer with attractive characteristics.

Keywords: Fish; Starter culture; Quality; Physicochemical; Predictive microbiology.

Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo preparar un paté pintado amazónico adicionado con cultivo iniciador (*Staphylococcus xylosus* y *Pediococcus pensacensis*), realizar su caracterización y determinar el plazo comercial y desarrollar un modelo matemático predictivo para verificar el crecimiento del cultivo. El paté se preparaba con pescado cocido y cultivo iniciador. Al paté se le realizaron análisis fisicoquímicos y microbiológicos, el cual se almacenó en envases de plástico y vidrio durante 24 días a 10°C. El paté presentó contenidos de humedad, cenizas, proteínas, lípidos y parámetros de color (cerca del blanco, rojo y amarillo), estables durante el almacenamiento y evaluación sanitaria dentro de los estándares legales. El pH del producto disminuyó con el tiempo (de 6,43 a 5,11), mientras que las bases volátiles totales y la oxidación de lípidos aumentaron (de 8,81 a 10,36 mgN/100g y de 0,35 a 0,52 MDA/Kg, respectivamente). Las bacterias mesófilas aumentaron (de 6,66 a 9,25 log UFC/g), mientras que las bacterias psicrotroficas y *Pseudomonas* sp mostraron un crecimiento limitado (4,79 y 0 log UFC/g, respectivamente). Las bacterias en el cultivo iniciador mostraron un buen desarrollo (de 6,51 y 6,57 log UFC/g a 9,32 y 9,12 log UFC/g) y mostraron un crecimiento exponencial después de una breve fase de adaptación, según el modelo de Gompertz. Con base en estos resultados, se estableció el plazo comercial en 15 días, concluyendo que desarrollar un paté de pescado adicionado con cultivo iniciador brindará características atractivas al consumidor.

Palabras clave: Pescado; Cultura inicial; Calidad; Físicoquímica; Microbiología predictiva.

1. Introdução

Patê é um produto cárneo industrializado, adicionado de ingredientes e submetido a um processo térmico adequado, podendo ser denominado como patê cremoso, quando se utiliza uma porção da matéria-prima cozida e outra porção crua; e patê pastoso, quando toda a matéria-prima utilizada é cozida (Brasil, 2000; Brasil, 2017). É um alimento de alto valor agregado e propriedades sensoriais atrativas, podendo ser formulado com diversos ingredientes, entre eles o pescado, o que proporciona vantagens nutricionais e alternativas para o consumo de peixe (Gonçalves & Cezarini, 2008; Lobo et al., 2015).

As formulações de patê de pescado normalmente utilizam espécies marinhas e de alto valor comercial, como salmão e atum, enquanto espécies dulcícolas têm se mostrado uma alternativa agradável (Minozzo et al., 2008). Dentre elas, o pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*), espécie híbrida vem se destacando no mercado devido a características zootécnicas e aos atributos sensoriais de sua carne, de cor clara, textura firme, sabor suave e atraente e presença de poucos espinhos (Couto, 2009; Baldisserotto & Gomes, 2013).

Utilizar o pintado amazônico na elaboração de patês é um meio de ampliar a variedade de produtos à base de peixe, e para satisfazer a demanda por alimentos práticos e saudáveis que apresentem algum tipo de benefício fisiológico, a incorporação de uma cultura *starter*, combina a qualidade do pescado com os benefícios dessas culturas, uma vez que elas desempenham um papel importante na melhoria das características sensoriais e na conservação do patê, influenciando positivamente seu sabor, textura e vida útil (Bernardi et al., 2010; Inô et al., 2020).

As culturas *starter*, também conhecidas como culturas iniciadoras, são microrganismos específicos que desempenham um papel vital na produção de alimentos fermentados. Geralmente, essas culturas são compostas por bactérias ácido-láticas (BAL), como *Lactobacillus* e *Streptococcus*, ou leveduras, como *Saccharomyces*, que são introduzidas intencionalmente em um alimento durante o processo de fermentação para controlar e direcionar as transformações bioquímicas que ocorrem durante a produção (Bernardi et al., 2010; Laranjo et al., 2019).

As culturas iniciadoras têm várias características vantajosas. Elas são selecionadas por suas propriedades metabólicas,

como a capacidade de fermentar açúcares e produzir ácido lático, álcool ou outros compostos desejáveis. Isso não apenas preserva o alimento, mas também influencia seu sabor, textura e aroma. Além disso, as culturas *starter* competem com microrganismos indesejados, reduzindo o risco de deterioração ou contaminação por patógenos, fazendo com que o alimento seja seguro para consumo (Laranjo et al., 2019). No entanto, é importante monitorar e controlar as culturas *starter* com precisão, pois seu desempenho pode variar dependendo das condições do processo de fermentação, temperatura e pH, afetando a qualidade do produto. Apesar das BAL serem as mais utilizadas como culturas iniciadoras, outras bactérias não lácticas também têm sido utilizadas em vários tipos de produtos fermentados, especialmente os cárneos. (Bernardi et al., 2010).

Na fermentação dos produtos cárneos, diversos tipos de microrganismos desempenham um papel importante, incluindo as bactérias ácido-láticas (BAL), cocos coagulase negativo da família *Micrococcaceae* (como *Staphylococcus* e *Kocuria*), e, em menor grau, leveduras (*Debaryomyces*) e bolores (*Penicillium*). Muitas culturas iniciadoras comerciais utilizadas na produção de produtos cárneos consistem em uma combinação dessas variedades de microrganismos (Laranjo et al., 2019).

Assim como as bactérias ácido-láticas (BAL), as cepas de *Staphylococcus* coagulase negativa são componentes naturais da microbiota encontrada na carne e nos embutidos cárneos fermentados. Espécies como *S. xylosum*, *S. carnosus*, *S. saprophyticus* e *Kocuria varians* são frequentemente utilizadas como culturas *starter* comerciais no processamento de embutidos cárneos fermentados. A principal função dessas bactérias durante o processamento desses produtos é a conversão do nitrato em nitrito e, subsequentemente, em óxido nítrico, devido à sua alta atividade na enzima nitrato redutase (Fiorentini et al., 2009).

A adição de culturas *starter* em produtos cárneos tem sido utilizadas em produtos tradicionais, como embutidos, em todo o mundo, pois oferece várias vantagens significativas, incluindo a redução dos custos de produção devido à diminuição do tempo necessário para fermentação e maturação, aprimorando o controle microbiológico e standardizando o processo e a qualidade do produto. Além disso, sua utilização ajuda a prolongar a vida útil dos produtos, garantindo sua disponibilidade por mais tempo nas prateleiras (Cavenaghi & Oliveira, 1998; Laranjo et al., 2019).

Para acompanhar e monitorar o crescimento dessas bactérias de forma eficaz, a microbiologia preditiva emerge como uma ferramenta valiosa, pois é uma técnica que associa elementos de microbiologia, matemática e estatística, de forma que possam descrever e prever o comportamento dos microrganismos sob condições diversas, através da aplicação de modelo matemáticos (Whiting, 1995; Nakashima et al., 2000; Akkermans et al., 2017).

Neste contexto, este trabalho teve por objetivo elaborar um patê pastoso de pescado à base de pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) adicionado de uma cultura *starter* (*Staphylococcus xylosum* e *Pediococcus pensosaceus*), realizar sua caracterização e determinar o prazo comercial e desenvolver um modelo matemático preditivo para monitorar o crescimento da cultura adicionada, em duas embalagens distintas (plástico e vidro).

2. Metodologia

A matéria-prima utilizada para elaborar o patê consistiu em filés de peixe da espécie pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*), frescos, adquiridos diretamente do comércio do município de Cuiabá – MT, Brasil. A matéria-prima foi acondicionada imediatamente em caixa térmica com gelo reciclável para manter a temperatura durante o transporte até o Laboratório de Processamento de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT), Cuiabá – Campus Bela Vista, para elaboração do patê. O intervalo de tempo entre aquisição da matéria – prima e a elaboração não ultrapassou uma hora. Após a elaboração e o envase, aguardou-se o período de 24 horas para então iniciar as análises higiênico-sanitárias, de caracterização físico-química e de prazo comercial e de verificação de crescimento da cultura *starter*. Este estudo quantitativo utilizou um delineamento inteiramente casualizado (Pereira, 2018).

2.1 Elaboração do patê

Durante a elaboração do patê pastoso, 100% da matéria prima foi primeiramente cozida (sem pele) a 72°C por aproximadamente 30 minutos, sendo estes e os demais ingredientes pesados em balança semi-analítica (Balmak, ELC-15BS, Brasil), para então serem utilizados na elaboração do patê. Após a pesagem, os filés foram triturados juntamente com o gelo, por aproximadamente 30 segundos, em equipamento *cutter* e então adicionados os ingredientes restantes: proteína isolada de soja (PIS), sal, sal de cura, óleo de canola, amido e condimentos, monitorando temperatura de 12° a 15°C para evitar quebra da emulsão e manutenção do equilíbrio de seus componentes. A formulação do patê é apresentada na Tabela 1, segundo a metodologia proposta por Minozzo et al. (2008), adaptando-a conforme necessário para atingir o objetivo do trabalho.

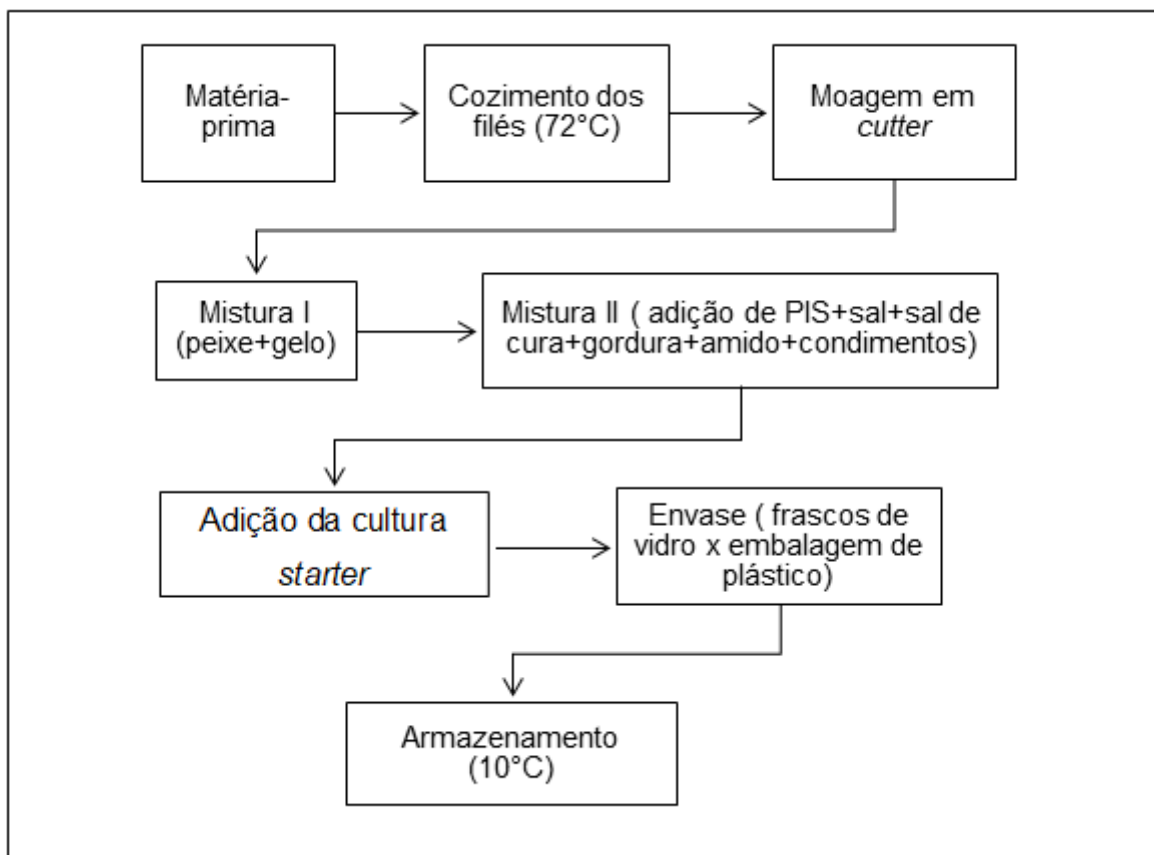
Tabela 1 - Formulação do patê pastoso de pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*).

Ingredientes	Quantidade (%)
Pescado	47%
Água (gelo)	23%
Proteína Isolada de Soja (PIS)	3%
Sal	0,8%
Sal de cura	0,3%
Óleo de canola	4,2%
Amido	2%
Condimentos	0,8%
Cultura <i>starter</i>	25g/100Kg*

*Especificado pelo fabricante. Fonte: Adaptado, Minozzo et al. (2008).

Após a homogeneização da pasta, adicionou-se a cultura *starter* comercial (Bactoferm T-SPX), adquirido na forma liofilizada, sendo composta por *Staphylococcus xylosus* e *Pediococcus pensosaceus*, e então o patê foi envasado em dois tipos de embalagens: em frascos de vidros e em embalagens de plástico, afim de verificar a sua possível influencia durante o armazenamento, sendo 25 unidades amostrais de cada contendo aproximadamente 150 gramas, ambos previamente esterilizados, e armazenados sob refrigeração a 10°C. A Figura 1 apresenta o fluxograma operacional do processamento do patê.

Figura 1 - Fluxograma operacional do processamento de patê de pescado adicionado de cultura *starter*.



PIS: Proteína Isolada de Soja. Fonte: Autores (2020).

2.2 Caracterização físico-química

Para a caracterização química do produto elaborado foi realizada a análise de composição centesimal (umidade, cinzas, proteína e lipídios), atividade de água e parâmetros de cor e textura, no início e ao final do período de armazenamento, ou seja, nos 0 (T0) e 24 (T8) dias.

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico em estufa (SPLabor; Modelo: SP-100/100) a 105°C e o teor de cinzas através do método gravimétrico com incineração da matéria orgânica, seguida de calcinação em mufla (Zezimaq; Modelo: 2000-F) a 550°C. Os lipídeos foram determinados através do método Goldfish, realizando-se a extração por solvente a quente. A proteína foi determinada pelo método Kjeldhal, aplicando o fator de 6,25 para conversão do nitrogênio em proteína. Todas realizadas de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). A atividade de água (Aa) foi medida por método direto da A.O.A.C 978.18 e ASTM D6836 02 (2008), utilizando-se o equipamento AquaLab, com controle de temperatura da amostra em 25°C (Aqualab series 4TE, São José dos Campos – São Paulo, Brasil).

A cor foi determinada utilizando-se colorímetro digital Minolta (Konica Minolta, Modelo CM-700d, Japão), conforme especificações da Comissão Internationale de L'Éclairage – CIE, utilizando os parâmetros de L*, a*, b* (escala CIELAB) sendo L* luminosidade, variando entre 0 a 100 (preto/branco), a* intensidade de verde / vermelho, b* intensidade de azul/amarelo (Ramos & De Miranda Gomide, 2007).

A textura foi realizada através do uso do equipamento texturômetro TA.XT.plus (Stable Micro Systems Ltd., Vienna Court, UK), utilizando o dispositivo de extrusão para trás (back extrusion rig), modelo A/BE, para medir a força necessária para a extrusão da amostra em volta de um pistão de 35 mm de diâmetro, seguindo a técnica descrita por Ramírez et al. (2007). As amostras (30g) foram colocadas em frascos de 4,5 cm de altura e 4,0 cm de diâmetro, e então extrusadas a

velocidade de 1 mm/s a 80% da sua altura inicial. Os parâmetros analisados foram firmeza e consistência, definidas através da força máxima e a área sob a curva, respectivamente.

2.3 Avaliação higiênico - sanitária

Para avaliar a condição higiênico-sanitária do produto elaborado foram realizadas as análises microbiológicas que consistiram na quantificação de coliformes a 45°C e estafilococos coagulase positiva e ocorrência de *Salmonella* sp, previstas na Instrução Normativa nº161 (Brasil, 2022). A análise de coliformes a 45°C foi realizada de acordo com a metodologia proposta pelo Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2017), enquanto estafilococos coagulase positiva pelo método de plaqueamento ISO 6888-1:1999/Amd 1:2003 e presença/ausência de *Salmonella* sp pelo método ISO 6579-1 (Silva et al., 2017).

2.4 Determinação de prazo comercial

Para avaliação do prazo comercial foram realizadas análises físico-químicas que consistiram na determinação do potencial hidrogeniônico (pH), bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) e oxidação lipídica e análises microbiológicas de contagem total de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (BHAM), bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas (BHAP) e *Pseudomonas* sp. Estas foram realizadas de 3 em 3 dias durante 24 dias de armazenamento, nas duas embalagens de estocagem testadas (plástico e vidro), ambas à temperatura de 10°C, totalizando 2 tratamentos e 9 tempos de estocagem.

O pH foi determinado por método potenciométrico (Brasil, 2017), BNVT foram medidas pelo método de microdifusão (Brasil, 1981) e a determinação da oxidação lipídica, através do método de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (Tarladgis et al., 1960). A quantificação de BHAM foi realizada por método de plaqueamento APHA 08:2015, BHAP por método de plaqueamento APHA 13.61:2015 BHAP e *Pseudomonas* sp. por método de plaqueamento ISO 13720:2010 para contagem presuntiva de *Pseudomonas* sp. em carne e produtos cárneos (Silva et al., 2017).

2.5 Desenvolvimento da cultura *starter* e microbiologia preditiva

Para monitoramento do crescimento dos microrganismos da cultura *starter* adicionada foi realizada análise microbiológica de contagem das baterias lácticas através do método de plaqueamento ISO 15214:1998 para contagem de bactérias lácticas em alimentos (Silva et al., 2017), devido a cultura possuir *Pediococcus pensosaceus* na composição, e ela ser considerada uma bactéria láctica.

A partir dos dados de crescimento das bactérias adicionadas ao patê obtidos nas duas condições de armazenamento: embalagem de plástico (tratamento A) e frascos de vidro (tratamento B), o modelo de Gompertz, descrito na equação 1 (Zhou et al., 2012), foi ajustado para obtenção dos parâmetros cinéticos de crescimento: fase de adaptação (λ), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) e a população máxima atingida (A) durante o período de estocagem. O ajuste do modelo aos dados experimentais foi realizado com auxílio do software R i386 3.6.1.

$$y = C * \exp(-\exp(-B * (t - M))) \quad (\text{Equação 1})$$

onde:

y = quantidade (log UFC/g) de microrganismos em determinado tempo;

C = valor mais alto de crescimento (população máxima atingida);

B = velocidade de crescimento relativa no tempo M;

M = ponto (tempo) onde a velocidade de crescimento é máxima;

t = tempo.

2.6 Análise Estatística

Os resultados obtidos nas análises de composição centesimal, atividade de água, parâmetros de cor L^* , a^* e b^* , e de firmeza e consistência foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) em delineamento inteiramente casualizado (DIC), e submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk ao nível de significância de 5%, e as médias comparadas pelo teste t de Student ($P < 0,05$), e os dados expressos como média \pm DP. Os dados de pH, bases voláteis totais, substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico, BHAM, BHAP, *Pseudomonas* sp, e os dados de crescimento da cultura *starter* passaram por análise de regressão quadrática, onde foram analisados os resíduos e o R^2 para os modelos, seguindo uma significância de 5% tanto para os coeficientes, quanto para a anova do modelo. Para incluir dados físico-químicos e microbiológicos e os tempos de estocagem, foi feita a Análise de Componente Principal (ACP). A capacidade do modelo primário de Gompertz (1) em descrever os dados experimentais foi analisada através do índice estatístico coeficiente de regressão (R^2). Todas as análises foram feitas utilizando o software R i386 3.6.1 e os pacotes estatísticos (“dplyr”), (“ExpDes.pt”), (“agricolae”), (“FactoMineR”), (“factoextra”), (“vegan”), (“ROCR”), (“purrr”) (R Core Team, 2019).

3. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização físico-química

Os valores da composição centesimal e atividade de água do patê de pintado amazônico estão expressos abaixo na Tabela 2. Uma vez que não houve diferentes formulações do patê, as análises foram realizadas apenas no início e final do período de armazenamento, ou seja, nos 0 (T0) e 24 (T8) dias e pode-se constatar que nenhum parâmetro diferiu estatisticamente ($p > 0,05$), indicando que o patê se manteve estável durante o período de estocagem.

Tabela 2 - Composição centesimal e Atividade de água de patê pastoso de pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) adicionado de cultura *starter*.

Tempo	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Aa
T0	75,6 \pm 1,39 ^a	2,84 \pm 0,07 ^a	11,83 \pm 0,22 ^a	20,44 \pm 0,17 ^a	0,98 \pm 0,01 ^a
T8	76,06 \pm 0,31 ^a	2,89 \pm 0,01 ^a	12,48 \pm 1,19 ^a	20,56 \pm 0,59 ^a	0,98 \pm 0,00 ^a

Letras iguais na mesma coluna, os resultados não diferem entre si, ao nível de significância de 5% pelo teste t de Student. Aa: atividade de água; T0: 0 dias de armazenamento; T8: 24 dias de armazenamento. Fonte: Autores (2020).

O patê pastoso de pintado amazônico adicionado de cultura *starter* apresentou quantidades relevantes de proteínas, minerais e umidade e conteúdo considerável de lipídeos, cor mais próxima ao branco, vermelho e amarelo, sendo que o produto elaborado se manteve estável ao longo da estocagem em relação a todos os parâmetros avaliados.

Destaca-se a quantidade de proteínas, de 11,83 a 12,48 % (primeiro e 24º dia), sendo ligeiramente maior quando comparado aos dados proteicos obtidos de outras formulações de patê utilizando peixe como matéria-prima como Minozzo et al. (2008) e Lobo et al. (2015), que encontraram 8,77% e 9,69% e 8,34% de proteínas em patês à base de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e cachapinta (*Pseudoplatystoma* sp), respectivamente. Diversos fatores podem influenciar o teor proteico do patê, dentre eles estão não apenas a espécie do peixe utilizado como matéria-prima, mas também a adição de demais ingredientes, como a proteína isolada de soja que foi utilizada na formulação.

O conteúdo lipídico do patê foi de 20,44 a 20,56% no primeiro e no 24º dia de armazenamento, demonstrando que o mesmo se manteve estável durante esse período. Lobo et al. (2015) e Minozzo et al. (2008) obtiveram 24,46%, 26,12 e 28,15% de lipídios em patês utilizando cachapinta e tilápia. As diferenças entre o conteúdo de gorduras podem ser devido a fatores

como espécie, proporção e até mesmo a parte do peixe utilizada na elaboração, bem como na adição de fontes de lipídios, como o óleo de canola adicionado na formulação apresentada neste estudo.

De acordo com Schiffner et al. (1996), a quantidade de gordura de um patê influencia diretamente na sua qualidade final, pois se a gordura for suficiente e bem distribuída, o patê possuirá um maior período de conservação. É considerada que a quantidade ótima de gordura deve ser entre 20 e 60% no patê, estando os teores encontrados neste trabalho dentro desse intervalo.

O patê possui um alto teor de umidade, apresentando 75,6% a 76,06% no primeiro e 24º dia de armazenamento, principalmente quando comparado aos encontrados por Minozzo et al. (2008), de 58,03 e 56,78%, e Lobo et al. (2015) de 63,14% de umidade em patês de tilápia e cachapinta, respectivamente. Este fato pode estar associado a quantidade de água/gelo adicionada durante a elaboração, além de a espécie utilizada também influenciar diretamente no conteúdo de umidade.

O conteúdo de cinzas encontrado, de 2,84 a 2,89%, é maior que o obtido por Lobo et al. (2015) que obtiveram 2,09% de cinzas em patê de cachapinta, e semelhante aos encontrados por Minozzo et al. (2008), 3,26 e 3,01% em patês cremoso e pastoso de tilápia, respectivamente. De acordo com o referido autor, o conteúdo de cinzas é correspondente a minerais como sódio, cálcio, zinco e magnésio, portanto, pode-se considerar o patê uma boa fonte desses minerais.

A Aa indica a quantidade de água livre no alimento, e os resultados obtidos (0,98 no primeiro e 24º dia de armazenamento) mostram que o patê é um alimento com alta atividade de água, fato que favorece o desenvolvimento de microrganismos no meio, podendo induzir o produto a se deteriorar mais rapidamente. Os valores encontrados para Aa neste estudo se assemelham ao encontrado por Minozzo (2005) que obteve 0,99 em patê cremoso elaborado a partir de tilápia do nilo.

Algumas das propriedades físicas que interferem nas primeiras impressões durante avaliação de qualidade pelos consumidores são a cor e a textura do produto, constituindo um conjunto de atributos sensoriais de alta relevância, sendo importante característica para a aceitação de um produto (Monteiro, 2013). A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos na análise de parâmetro de cor e textura do patê no início (T0) e fim (T8) do período de armazenamento, sendo que todos os parâmetros foram iguais ($p > 0,05$) nos tempos de estocagem.

Tabela 3 - Parâmetros de cor e textura de patê pastoso de pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) adicionado de cultura *starter*.

Tempo	L*	a*	b*	Firmeza (Kg)	Consistência (mm ²)
T0	55,93±0,98 ^a	2,59±0,55 ^a	9,42±0,03 ^a	2,27±0,36 ^a	4,19±1,66 ^a
T8	56,43±0,14 ^a	2,63±0,47 ^a	9,51±0,12 ^a	1,18±0,18 ^a	3,19±0,45 ^a

Letras iguais na mesma coluna, os resultados não diferem entre si, ao nível de significância de 5% pelo teste t de Student. L*: luminosidade; a*: a- verde / a+ vermelho; b*: (b- azul / b+ amarelo); Kg: quilogramas; mm: milímetros; T0: 0 dias de armazenamento; T8: 24 dias de armazenamento. Fonte: Autores (2020).

O valor L* expressa a claridade da amostra, variando de 0 (preto) a 100 (branco). Os valores encontrados no presente estudo demonstram que a luminosidade (L*) do patê não foi afetada pelas condições de armazenamento, além de indicar que o patê desenvolvido tende para coloração clara, uma vez que quanto mais próximo é o valor de L* a 100, mais clara é a amostra (Ramos & De Miranda Gomide, 2007). Além disso, o pintado amazônico, matéria-prima do patê, é conhecido por possuir uma coloração clara, o que indica que não houve muita interferência dos demais ingredientes adicionados na formulação do patê. (Baldisserotto & Gomes, 2013; Couto, 2009).

Já os valores de a* e b*, expressam a tonalidade do verde ao vermelho e do azul ao amarelo, respectivamente. Os

valores encontrados em a^* e b^* indicam que a coloração do patê tende ao vermelho e ao amarelo, uma vez que valores mais negativos de a^* e b^* indicam tonalidade verde e azul, enquanto valores de a^* e b^* mais positivos indicam tonalidade vermelho e amarelo, respectivamente (Ramos & De Miranda Gomide, 2007), devido aos ingredientes adicionados ao patê. Por ser um aspecto importante na avaliação de consumidores, deve-se ter atenção durante o processo de produção, visto que a coloração de patês pode variar dependendo da sua formulação, principalmente se for utilizado algum tipo de corante para melhorar o aspecto de cor, fato que não ocorreu no presente estudo.

Os resultados obtidos para os parâmetros de firmeza e consistência não apresentaram diferença significativa durante o armazenamento ($p>0,05$), demonstrando que o patê se manteve estável durante esse período. A textura é um parâmetro sensorial que possui grande importância na qualidade e aceitação de produtos. Os resultados obtidos no presente estudo são menores que o apresentado por Ramires et al. (2007).

3.2 Avaliação higiênico – sanitária

O pescado e seus subprodutos são alimentos susceptíveis a ação de microrganismos, exigindo cuidados durante todo o processo de produção, manipulação e armazenamento, para se garantir que o produto obtido seja de qualidade. Quando presentes, os microrganismos podem comprometer a qualidade do alimento, mas também podem ocasionar danos à saúde do consumidor.

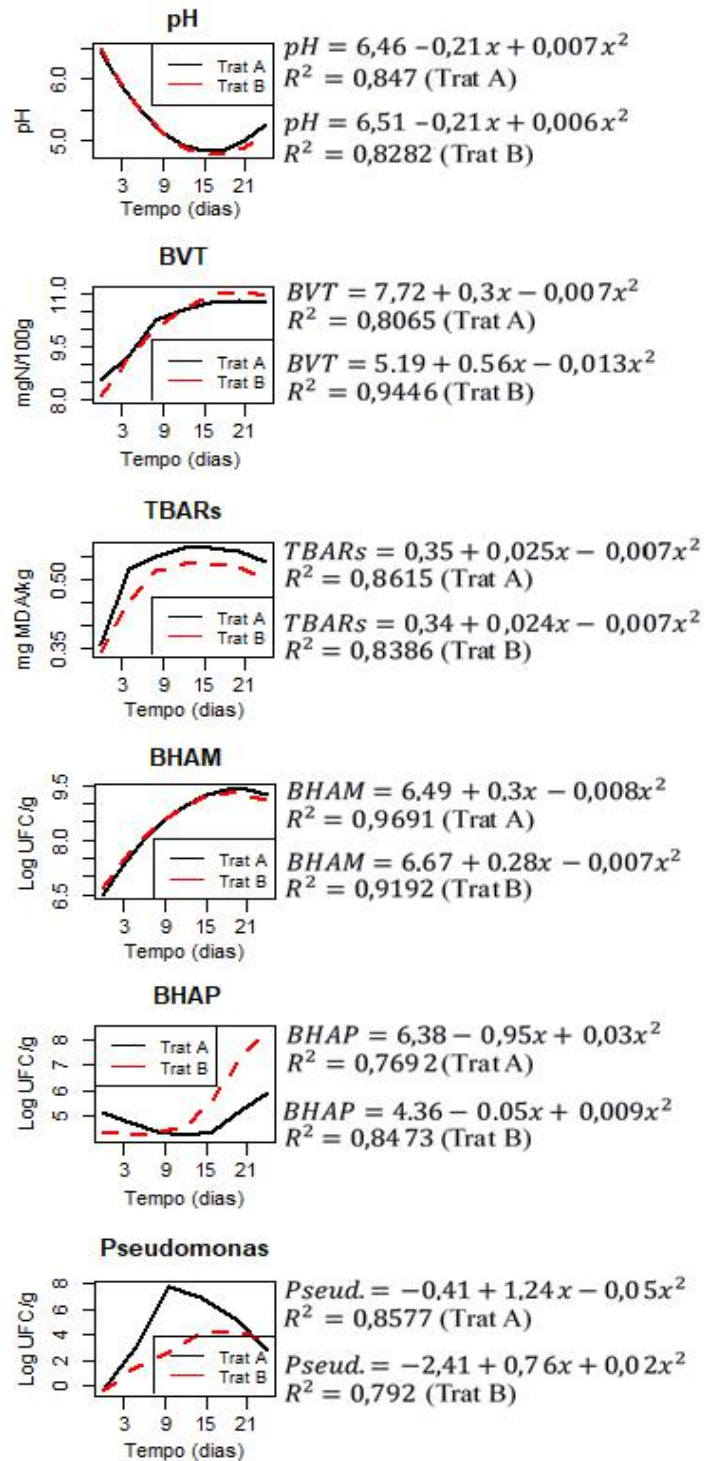
Os resultados indicaram ausência de *Salmonella* sp. e a contagem de coliformes a 45°C e de estafilococos coagulase positiva foi abaixo de 1 log UFC/g, estando o patê pastoso de pintado amazônico adicionado de cultura *starter* de acordo com o padrão microbiológico (Brasil, 2022) e em condições higiênico-sanitárias satisfatórias e aptos ao consumo.

Esses resultados indicam que o patê elaborado atende aos padrões microbiológicos estabelecidos em legislação. Isso é fundamental para garantir a segurança do alimento, uma vez que a presença de microrganismos patogênicos, como *Salmonella* sp., poderia representar um risco à saúde do consumidor., portanto sua ausência é um indicativo positivo da qualidade e segurança do produto (Ehuwa et al., 2021). Além disso, a contagem de coliformes a 45°C e de estafilococos coagulase positiva abaixo de 1 log UFC/g também está dentro dos limites aceitáveis (Brasil, 2022). Esses resultados sugerem que o patê foi produzido e armazenado em condições higiênico-sanitárias adequadas, minimizando a presença de microrganismos indesejados.

3.3 Determinação de prazo comercial

A Figura 2 apresenta a evolução dos resultados dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos dos dois diferentes tratamentos (A e B) do patê de pintado amazônico durante o período de armazenamento.

Figura 2 - Variações de pH, BVT e TBARs, BHAM, BHAP e *Pseudomonas* sp dos patês de pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) adicionados de cultura *starter* durante 24 dias de armazenamento.



Trat. A: Tratamento A (embalagem de plástico x 10°C); Trat. B: Tratamento B (embalagem de vidro x 10°C); BVT: bases voláteis totais; TBARs: substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico; BHAM = bactérias heterotróficas aeróbios mesófilas; BHAP = bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas. Fonte: Autores (2020).

O valor de pH expressa o grau de degradação do alimento, baseado na acidez, resultado de reações e processos químicos e/ou bioquímicos no alimento. Quanto mais próximo à neutralidade (pH=7), maior a probabilidade do crescimento microbiano (Gomes & Oliveira, 2011, Ribeiro et al., 2018). A Figura 2 demonstra que o pH dos tratamentos A e B reduziram

ao longo do período de armazenamento, sendo de 6,43 e 6,39 no primeiro dia, atingindo 4,91 e 4,92 no 15º dia de armazenamento, voltando a aumentar até atingir 5,11 e 5,005 no 24º dia, nos tratamentos A e B, respectivamente. De acordo com Minozzo et al. (2010), valores de pH próximos a neutralidade são comuns em patês de pescado, corroborando com os valores iniciais encontrados no presente estudo. No entanto, durante o período de armazenamento pode ser observado a queda de pH, consequência da adição da cultura *starter*, uma vez que ele possui o *Pediococcus pensosaceus*, considerado uma bactéria láctica, pois elas acidificam o meio através da produção de ácido láctico. Este fato é reforçado pela ACP (Figura 5), no qual ambos são inversamente proporcionais, ou seja, à medida que a população das bactérias da cultura *starter* aumentou, o pH diminuiu.

As bases voláteis totais (BVT) retratam o conjunto de bases nitrogenadas, como trimetilamina (TMA) e amônia, compostos normalmente presentes em pescado durante deterioração, e a quantificação das bases voláteis totais é amplamente utilizado para medir a qualidade do pescado (Soares & Gonçalves, 2012). Apesar de normalmente ser aplicado para qualidade da matéria-prima, optou-se por realizar a análise de BVT no patê para verificar o seu comportamento no produto elaborado. Os valores encontrados de BVT (Figura 2) demonstram que ocorreu um aumento durante o armazenamento em ambos os tratamentos do patê, de 8,81 e 8,06 mg N/100g no primeiro dia para 10,36 e 11,97 mg N/100g no 24º dia de armazenamento dos tratamentos A e B, respectivamente. A legislação brasileira não estabelece limites de BVT para produtos à base de pescado, e não foram encontrados na literatura estudos de quantificação de BVT em patês de pescado para fins de comparação.

Devido a sua composição, o pescado, bem como os seus derivados, é um produto bastante susceptível à oxidação lipídica, uma alteração difícil de ser controlada, responsável por sabores e odores indesejáveis, normalmente denominado de ranço (Ferreira et al., 2016, Piccolo et al., 2014). Além de alterações na qualidade sensorial, a oxidação lipídica acarreta destruição de vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais. O método mais usual para avaliar a oxidação lipídica é o teste de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), que quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos polinsaturados (Osawa et al., 2005).

De acordo com Ke et al. (1984), valores inferiores a 0,57 mg de MDA/kg em produtos de peixe, indicam baixa taxa de rancidez, enquanto valores entre 0,65 e 1,51 mg de MDA/kg considera-se o produto como levemente rançoso e valores superiores 1,51 mg MDA/kg considera-se como rançoso e inaceitável. Portanto, pode-se verificar neste estudo que sugerir que os patês apresentaram baixa oxidação lipídica, visto que os valores de TBARS variaram entre 0,35 e 0,33 mg de MDA/kg no primeiro dia a 0,52 e 0,51 no 24º dia de armazenamento, para os tratamentos A e B, respectivamente (Figura 2).

Os valores obtidos na contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos (Figura 2) foram de 6,66 e 6,81 log UFC/g no primeiro dia e 9,25 e 9,26 no 24º dia de armazenamento, nos tratamentos A e B, respectivamente, sendo que o “pico” de crescimento se deu no 12º dia de armazenamento, e a partir deste o crescimento se manteve constante. Apesar da presença desses microrganismos serem implicados na ocorrência de falhas durante o processamento, manipulação e/ou armazenamento do produto, além de redução de vida de prateleira, e possíveis riscos para a saúde humana (Delbem et al., 2010; Reis et al., 2017), há uma exceção que consistem nos produtos fermentados. Sendo assim a contagem elevada de bactérias mesófilas deste estudo está associado ao fato da adição da cultura *starter* ao patê desenvolvido, uma vez que bactérias do gênero são classificadas como mesófilas com temperatura ótima de crescimento entre 30 e 37°C, fato este reforçado pela ACP (Figura 5), no qual ambos são proporcionais em relação ao crescimento.

Na contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios psicrotróficos, pode-se observar na Figura 2 valores de 4,79 e 5,2 log UFC/g no primeiro dia de armazenamento, havendo uma estabilidade significativa até o 9º dia, quando a contagem começou a aumentar, alcançando 7,25 e 7,94 log UFC/g no 24º dia, nos tratamentos A e B, respectivamente. Microrganismos psicrotróficos apresentam crescimento visível em 7 a 10 dias de armazenamento em alimentos refrigerados, fato que justifica a estabilidade inicial e aumento da contagem em sequência (Silva et al., 2017).

Devido ao fato de microrganismos psicrotróficos se multiplicarem à temperatura de refrigeração, a contagem desses microrganismos em pescado e em produtos à base de pescado, como o patê, se torna de importância principalmente para verificação da qualidade e vida de prateleira desses produtos que são conservados pelo frio, uma vez que contagens elevadas indicam que mais rápida é a deterioração e menor é a vida de prateleira do produto (Moura et al., 2018; Soares et al., 2011).

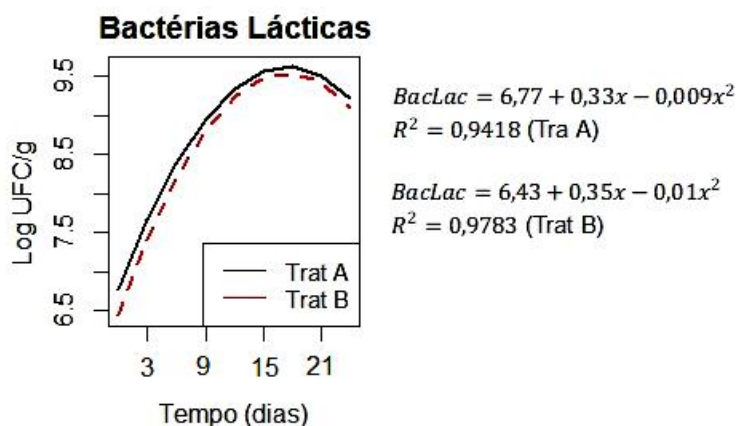
Os valores obtidos na contagem de *Pseudomonas* sp. apresentaram valores semelhantes no primeiro dia de armazenamento (0 e 1,18 log UFC/g para os tratamentos A e B, respectivamente), quando no 12º apresentou uma contagem diferente em ambos os tratamentos (7,02 e 5,47 log UFC/g), no entanto, no último dia voltaram a apresentar contagens semelhantes (3 log UFC/g em ambos os tratamentos). Esse fato é justificado pela temperatura de refrigeração, que associada ao pH inicial, contribuíram para o aumento desses microrganismos até o 12º dia de armazenamento, quando o pH ácido do meio começou a inibir o crescimento das mesmas, uma vez que bactérias do gênero *Pseudomonas* não toleram condições ácidas, principalmente em pH menor ou igual a 4,5 (Silva et al., 2017)

Devido a sua versatilidade metabólica e nutricional, bactérias do gênero *Pseudomonas* sp. ocupam diversos espaços ecológicos, como solo, água e conseqüentemente em alimentos. Sendo assim, sua ocorrência em alimentos como peixes e frutos do mar é comum, uma vez que diversas espécies são psicrotróficas e se desenvolvem em temperaturas de refrigeração, estando associada ao processo de deterioração (Silva et al., 2017). Não foram encontrados na literatura estudos de detecção de *Pseudomonas* sp. em patês de pescado para fins de comparação.

3.4 Desenvolvimento da cultura *starter* e microbiologia preditiva

Na Figura 3, está expresso a evolução dos resultados da contagem de bactérias lácticas nos tratamentos A e B do patê durante o período de armazenamento.

Figura 3 - Variação de crescimento de bactérias lácticas no patê durante 24 dias de armazenamento.



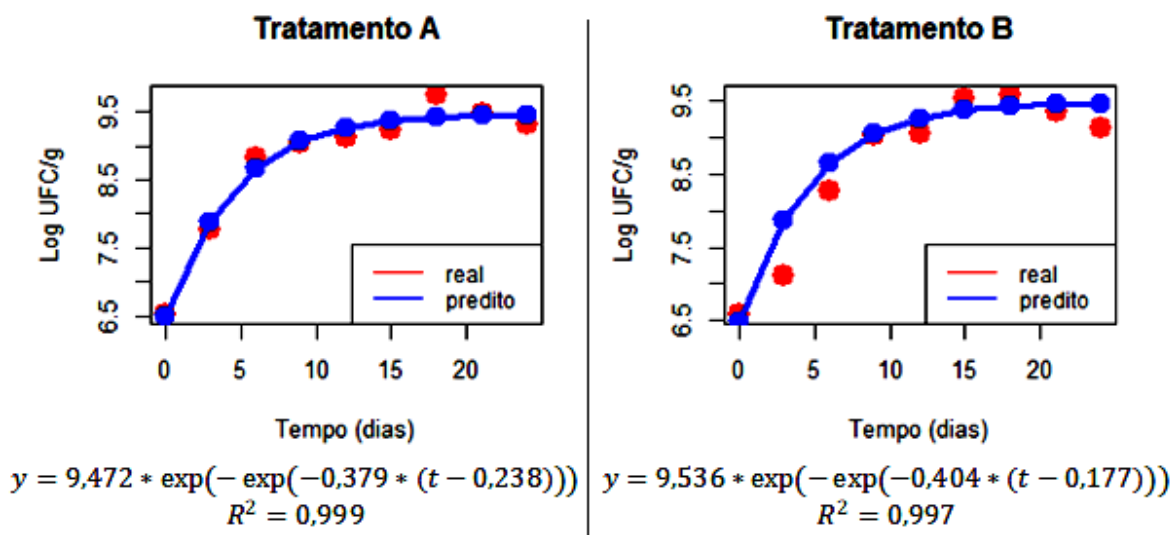
Trat. A: Tratamento A (embalagem de plástico x 10°C); Trat. B: Tratamento B (embalagem de vidro x 10°C). Fonte: Autores (2020).

Os tratamentos A e B tiveram um desenvolvimento semelhante, sendo a contagem de 6,51 e 6,57 log UFC/g no primeiro dia de armazenamento, tendo um crescimento considerável até o 15º dia (9,76 e 9,59 log UFC/g), quando houve menor crescimento e os valores praticamente se estabilizaram, atingindo 9,32 e 9,12 no 24º dia de armazenamento. A concentração dessas bactérias em produtos cárneos é influenciada por diversos fatores, como os microrganismos competidores, composição do produto, concentração de sal, nitratos, nitritos e açúcares, e temperatura (Macedo et al., 2008), sendo assim, os resultados demonstram que a embalagem possui pouca influência no crescimento das bactérias lácticas em uma mesma temperatura, uma vez que alimentos armazenados sob refrigeração são condições ideais, fato reforçado pela microbiologia

preditiva, posto que os valores obtidos pela modelagem matemática tiveram comportamentos semelhantes.

Na Figura 4 podem ser visualizadas as curvas de crescimento de bactérias lácticas contidas correspondente aos tratamentos A e B, ajustadas ao modelo de Gompertz juntamente com o valor estatístico de coeficiente de regressão (R²), utilizado para validação do modelo preditivo.

Figura 4 - Curva de crescimento de bactérias lácticas para os tratamentos A e B de patê pastoso a base de pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum x Leiarius marmoratus*) adicionado de cultura *starter* ajustado ao modelo de Gompertz.



Fonte: Autores (2020).

De acordo com os valores de R² encontrados pode-se comprovar que para as condições avaliadas o modelo de Gompertz apresentou bom ajuste para os dados de crescimento de bactérias lácticas, pois apresentaram os valores de 0,999 para o tratamento A e 0,997 para o tratamento B. Quanto mais próximo a 1 é o valor de R², os valores preditos estão próximos aos observados (Gospavic et al., 2008). Portanto, ao levar em consideração o R², pode-se considerar esse valor estatístico satisfatório, pois mostram que os valores preditos estão próximos aos valores observados.

Os parâmetros de crescimento, fase de adaptação (λ), velocidade específica máxima de crescimento (μ_{máx}) e população máxima atingida (A) estimados pelo ajuste do modelo primário de Gompertz aos dados experimentais, através do software R i386 3.6.1 estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros de crescimento de bactérias lácticas pelo modelo de Gompertz.

Tratamento	Parâmetros de crescimento – Gompertz		
	λ (h)	μ _{máx} (h ⁻¹)	A (Log UFC/g)
A	0,63	1,32	9,472
B	0,44	1,42	9,536

Tratamento A: embalagem de plástico x 10°C; Tratamento B: embalagem de vidro x 10°C; λ: fase de adaptação; μ_{máx}: velocidade específica máxima de crescimento; A: população máxima atingida; h: horas. Fonte: Autores (2020).

A partir dos parâmetros cinéticos de crescimento obtidos pelo ajuste do modelo de Gompertz é possível afirmar que a fase de adaptação (λ) durou apenas alguns minutos, sendo menor no tratamento B (aproximadamente 26 min) em relação ao tratamento A (aproximadamente 38 min), ou seja, as bactérias lácticas se adaptaram ao meio mais rapidamente no tratamento

B. No entanto, nota-se que para a velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) e a população máxima atingida (A) foram ligeiramente maiores no tratamento B em comparação ao tratamento A, demonstrando uma boa fase exponencial até o 15º dia, aproximadamente, quando houve uma maior estabilidade no crescimento, podendo ser caracterizado como a fase estacionária. O fato de os valores obtidos nas cinéticas de crescimento serem ligeiramente parecidos em ambos os tratamentos indica que há pouca influência dessas embalagens no crescimento das bactérias lácticas em uma mesma temperatura.

3.5 Análise de componentes principais

Foi realizada a análise de componentes principais (ACP) para incluir os parâmetros utilizados para avaliar a qualidade do patê no decorrer do período de estocagem (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 dias) para ambos os tratamentos (diferentes embalagens). Dentre os parâmetros, estão os físicos – químicos (pH, bases voláteis totais - BVT, substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico - TBARs), e parâmetros microbiológicos (contagens de bactérias heterotróficas aeróbios mesófilas - BHAM, bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas - BHAP, contagem de *Pseudomonas* sp e contagem de bactérias lácticas).

A ACP do tratamento A explicou 83,5% da variação total dos dados, conforme descrito na Figura 5. A dimensão 1 explica 65,9% enquanto a dimensão 2 explica 17,6% da variação total sobre os parâmetros de qualidade do patê elaborado. As contribuições dos tempos de estocagem estão descritas nas Equações 2 e 3 abaixo:

$$\text{Dim. 1} = 36,81(t_0) + 25,84(t_3) + 0,29(t_6) + 0,11(t_9) + 1,81(t_{12}) + 6,15(t_{15}) + 20,75(t_{18}) + 7,33(t_{21}) + 0,89(t_{24})$$

(Equação 2)

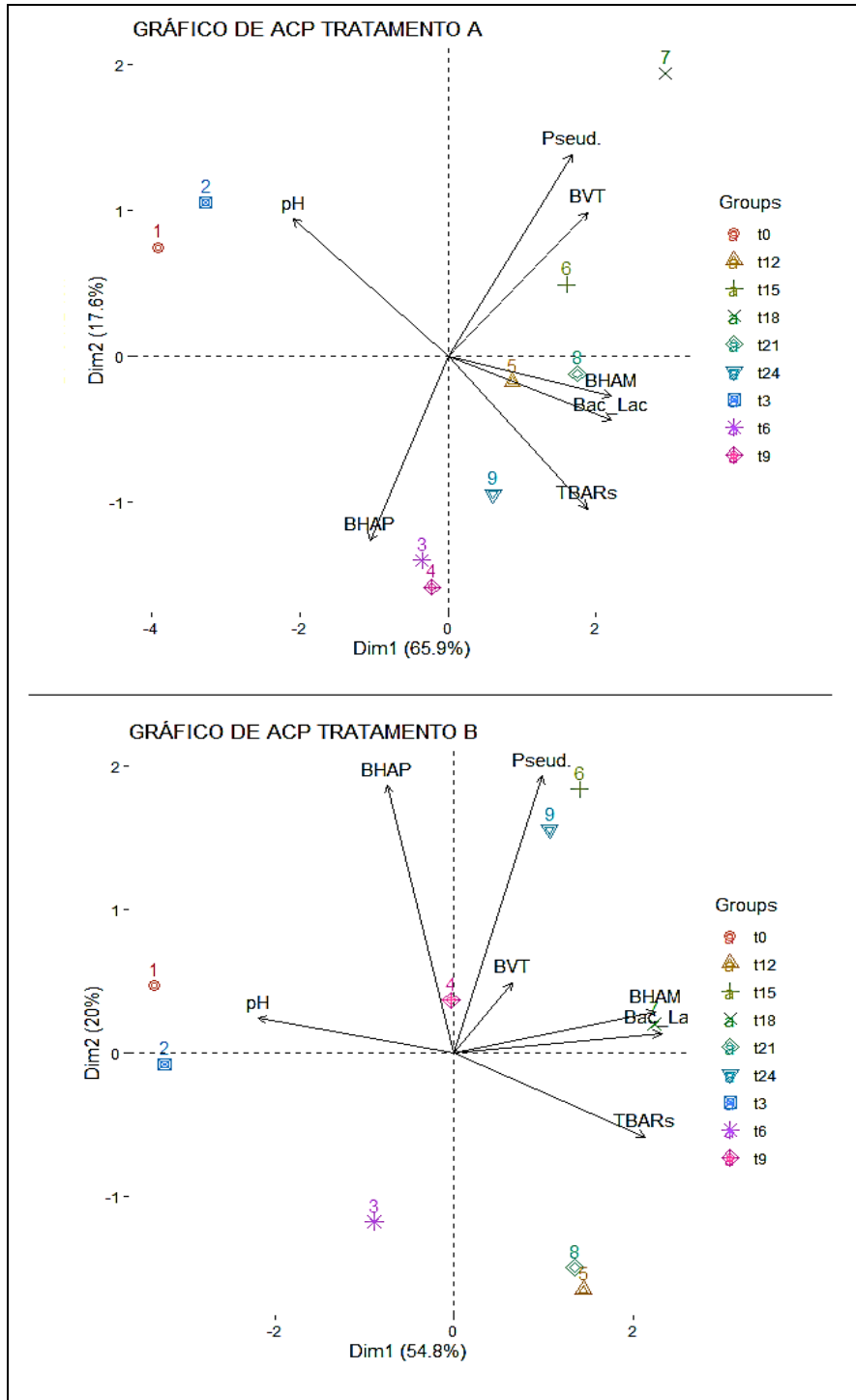
$$\text{Dim. 2} = 5,03(t_0) + 10,03(t_3) + 17,72(t_6) + 22,66(t_9) + 0,27(t_{12}) + 2,17(t_{15}) + 33,90(t_{18}) + 0,14(t_{21}) + 8,07(t_{24})$$

(Equação 3)

Conforme a comparação das equações 2 e 3, os tempos que melhor contribuíram para a dimensão 1 foram 0, 3º, 12º, 15º e 21º dias, enquanto os tempos 6º, 9º, 18º e 24º dias melhor contribuíram com a dimensão 2.

A Figura 5 representa a correlação entre todos os parâmetros utilizados para avaliar a qualidade do patê elaborado durante o período de estocagem em relação aos tratamentos A e B.

Figura 5 - Análise de componentes principais (ACP) dos parâmetros de qualidade de patê pastoso de pintado amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum x Leiarius marmoratus*) adicionado de cultura *starter* no decorrer do período de armazenamento.



Tratamento A: embalagem de plástico x 10°C; Tratamento B: embalagem de vidro x 10°C; BVT: bases voláteis totais; TBARs: substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico; BHAM: bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas; BHAP: bactérias heterotróficas aeróbias psicrotólicas, Pseud.: *Pseudomonas* sp; Bac_Lac: bactérias lácticas. Fonte: Autores (2020).

No tratamento A, pode-se verificar que as variáveis bactérias lácticas e BHAM são correlacionadas positivamente entre si, o que significa que conforme a concentração de bactérias lácticas no patê aumentar, a concentração de bactérias mesófilas também tende a aumentar. Pode-se observar ainda que esses parâmetros estão correlacionados negativamente com a variável pH, demonstrando que quanto menor o valor de pH, maior será a concentração de bactérias lácticas no patê. O mesmo

ocorre com as variáveis BVT e *Pseudomonas*, que possuem uma correlação positiva entre si, e uma correlação negativa com variável BHAP, indicando que quanto maior o teor de BVT e concentração de *Pseudomonas*, menor será a concentração de bactérias psicotróficas no patê.

No tratamento A, analisando a Figura 5 em conjunto com as equações 2 e 3, pode-se observar que a distância dos pontos em relação a origem, indicam se há uma contribuição forte para o experimento. Os tempos t0 e t3 (0 e 3º dia) possuem uma forte contribuição para o experimento, e por estarem na direção da variável pH, indicando que nesses dias os valores de pH tiveram as maiores mudanças, sendo esses os dias em que os valores de pH foram maiores. Os tempos t6, t9 e t24 (6º, 9º e 24º dias), apesar de serem similares, estão associados a duas variáveis diferentes: BHAP (tempo t6 e t9) e TBARs (tempo t24), ou seja, nos dias 6 e 9º de armazenamento, os valores de BHAP começaram a aumentar, sendo os dias de maiores mudanças, enquanto no 24º dia, a maior mudança foi em relação ao TBARs. O tempo t12 (12º dia), devido à pouca distância da origem, possui pouca contribuição para o experimento, apesar de estar associado as variáveis BHAM e bactérias lácticas, indicando que as mudanças que ocorreram nesse dia foram mínimas. Já os tempos t15, t18 e t21 (15º, 18º e 21º dias) além de estarem associados a diferentes variáveis, possuem contribuições diferentes também. Os tempos t15 e t21 foram os que contribuíram menos, sendo o tempo t15 associado a variável BVT, indicando maiores mudanças no 15º dia, quando os valores praticamente se estabilizaram, e o tempo t21 associado às variáveis bactérias lácticas e BHAM, indicando mudança nos valores no 21º dia, quando os valores começaram a cair. Já o tempo t21 (21º dia) contribuiu para o experimento, no entanto está pouco associado às variáveis *Pseudomonas* e BVT, indicando que houve poucas mudanças nesse dia.

Para o tratamento B (embalagem de vidro x 10°C), a ACP explicou 74,8% da variação total dos dados. A dimensão 1 explica 54,8% enquanto a dimensão 2 explica 20% da variação total. As contribuições dos tempos de estocagem estão descritas nas Equações 4 e 5.

$$\text{Dim. 1} = 32,4(t_0) + 30,4(t_3) + 2,3(t_6) + 0,01(t_9) + 6,1(t_{12}) + 5,7(t_{15}) + 14,5(t_{18}) + 5,3(t_{21}) + 3,3(t_{24})$$

(Equação 4)

$$\text{Dim. 2} = 1,7(t_0) + 0,1(t_3) + 11,1(t_6) + 1,1(t_9) + 21,8(t_{12}) + 26,8(t_{15}) + 0,3(t_{18}) + 17,9(t_{21}) + 19,2(t_{24})$$

(Equação 5)

Conforme as equações 4 e 5, os tempos que melhor contribuíram para a dimensão 1 foram 0, 3º e 18º dias, enquanto os tempos 6º, 9º, 12º, 15º, 21º e 24º dias melhor contribuíram com a dimensão 2.

Observando a Figura 5, pode-se verificar que no tratamento B as variáveis bactérias lácticas e BHAM são correlacionadas positivamente entre si, o que demonstra que a concentração de bactérias lácticas e mesófilas tendem a aumentar ou diminuir proporcionalmente no patê, e que ambos estão correlacionados negativamente com a variável pH, demonstrando que quando o valor de pH diminuir, maior será a concentração de bactérias lácticas no patê. Outra correlação positiva ocorre entre as variáveis BVT e *Pseudomonas*, demonstrando que quanto maior é o teor de BVT, maior será a concentração de *Pseudomonas* no patê, no entanto, o comprimento do vetor de BVT indica que o mesmo pouco contribuiu para o experimento.

Ainda analisando a Figura 5, agora para o tratamento B, em conjunto com as equações 4 e 5, nota-se que os tempos t0 e t3, correspondentes aos dias 0 e 3º de armazenamento, possuem contribuições similares, e por estarem próximos ao parâmetro de pH, indica que foram os dias de maiores mudanças, nesse caso esses formam os dias em que o pH obteve maiores valores. Os tempos t6 e t9 (6º e 9º dias) possuem contribuições diferentes, enquanto o 6º dia possui uma forte contribuição para o experimento, o 9º dia possui uma contribuição menor, estando associado às variáveis BHAP e *Pseudomonas*, demonstrando que nesse dia os valores de ambos os parâmetros sofreram mudanças, sendo elas o aumento na concentração de bactérias

psicrotróficas e de *Pseudomonas*. Os tempos t15 e t24 (15° e 24° dias) contribuíram fortemente para o patê, e por estarem associados ao parâmetro de *Pseudomonas*, demonstra que nesses dias os valores foram similares. Já os tempos correspondentes aos dias 12°, 18° e 21° (tempos t12, t18 e t21), tiveram forte contribuição para o patê, sendo que no 18° dia os valores de BHAM e bactérias lácticas tiveram maiores mudanças, quando a contagem de ambos começou a diminuir.

A ACP de ambos os tratamentos demonstrou que diversas variáveis possuem comportamentos distintos, no entanto, em ambos pode-se observar a correlação positiva entre bactérias mesófilas e bactérias lácticas, que são correlacionadas negativamente com a variável pH.

4. Conclusão

No aspecto higiênico sanitário, o produto elaborado está próprio para consumo. A avaliação do crescimento da cultura *starter* evidenciou que as embalagens estudadas possuem pouca influência no crescimento das bactérias lácticas em uma mesma temperatura. Esse fato foi comprovado pela microbiologia preditiva, uma vez que os valores obtidos pela modelagem matemática tiveram comportamentos semelhantes.

O prazo comercial do patê pastoso de pintado amazônico com cultura *starter* foi estimado em 15 dias, baseando-se nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos avaliados, sobretudo após os valores de pH voltarem a subir após o 15° dia, indicando que a acidez do meio estava diminuindo, e conseqüentemente a população de bactérias lácticas também.

Portanto, conclui-se que o desenvolvimento de um patê à base de peixe é uma opção agradável, que em conjunto com a incorporação de cultura *starter*, proporciona ao consumidor um alimento com características atrativas, podendo conciliar sabor, valor nutricional e praticidade, atendendo a atual demanda por produtos com essas características. No entanto, há a importância de realizar mais estudos acerca do tema, uma vez que as informações acerca de alimentos cárneos contendo culturas iniciadores ainda é limitado as espécies de bovinos e/ou suínos, sendo o pescado ainda pouco estudado.

Deixamos como sugestões para trabalhos futuros incluírem investigações mais aprofundadas sobre a otimização das formulações do patê, a análise de diferentes cepas de cultura *starter* e seu impacto nas características do produto final, bem como a avaliação da aceitação do consumidor e aspectos econômicos da produção em larga escala. Além disso, estudos sobre a estabilidade do produto ao longo do tempo, armazenamento e transporte também são importantes para melhor compreender sua viabilidade comercial e impacto na indústria alimentícia.

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT) - *Campus* Cuiabá- Bela Vista. A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro concedido. Ao IFMT/PROPES pela concessão de taxa de bancada para desenvolvimento do projeto.

Referências

- Akkermans, S., Logist, F., & Van Impe, J. F. (2018). Estimativas de parâmetros em microbiologia preditiva: modelagem estatisticamente sólida da taxa de crescimento microbiano. *Food Research International*, 106, 1105-1113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.083>
- Badaró, A. C. L., Gutierrez, A. P. M., Rezende, A. C. V., & Stringheta, P. C. (2008). Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana—parte I. *Nutrir Gerais*, 2(3), 1-29.
- Baldisserotto, B. (2005). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil* (pp. 303-325). L. de Carvalho Gomes (Ed.). UFSM.
- Bernardi, S., Golineli, B. B., & Contreras-Castillo, C. J. (2010). Revisão: aspectos da aplicação de culturas starter na produção de embutidos cárneos fermentados. *Brazilian Journal of Food Technology*, 13(2), 133-140.

- Brasil. Ministério da Agricultura (1981). *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II – Métodos físicos e químicos*. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Brasília, DF.
- Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 que aprova o *Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos*, Diário Oficial da União. Brasília – DF, 2001.
- Brasil, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (2000). Instrução Normativa Nº 21, de 31 de julho de 2000 *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Patê*. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União. Brasília - DF.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2017). *Manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal*. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília - DF.
- Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Lei nº9013 de 29/03/17. *Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal*. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. 2017; Brasília – DF.
- Cavenaghi, D., & Oliveira, M. N. de. (1998). Uso *Staphylococcus xylosum* e *Pediococcus pentasaceus* na fabricação do salame tipo italiano. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- Couto, C. (2009). Revolução nas águas. *Revista Globo Rural*. Editora Globo, 5, 36-43.
- Da Silva, H. R., do Nascimento, R. C. V., Talma, S. V., de Carvalho Furtado, M., Balieiro, A. L., & Barbosa, J. B. (2020). Technological applications of lactic acid bacteria (BALs) IN MILK PRODUCTS. *Revista INGI-Indicação Geográfica e Inovação*, 4(1), 681-690. <http://ingi.api.org.br/index.php/INGI/article/view/84> Acesso em 30/03/2020.
- Delbem, A., Garbelini, J., & de Lara, J. A. F. (2010). Avaliação microbiológica do Pintado (*Pseudoplatystoma corruscan*) obtido no Rio Paraguai (Pantanal) e conservado em gelo.
- De Souza, B. M. S., & Brunari, N. C. (2017). Bactérias probióticas e sua aplicação em leites fermentados. *Revista Científica de Medicina Veterinária-UNORP*, 1(1), 22-29. <http://public.unorp.br:8083/ojs/index.php/revmedvetunorp/article/view/7>
- De Souza, C. M. D., Soares, D. Â., de Oliveira, G. L., de Oliveira Lamas, J. J., Alves, L. A. B., de Almeida, P. H. C., ... & Martins, M. L. (2020). Probióticos e a indústria de alimentos: Uma visão geral. *Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente*, 1(3), 63-85. <https://revistascientificas.ifrj.edu.br/revista/index.php/alimentos/article/view/1435> 05/04/2020.
- Ehuwa, O., Jaiswal, AK e Jaiswal, S. (2021). Salmonella, segurança alimentar e práticas de manipulação de alimentos. *Alimentos*, 10 (5), 907.
- Ferreira, E. B., Cavalcanti, P. P., Nogueira, D. A., & Ferreira, M. E. B. (2018). Package ‘ExpDes. pt’.
- Ferreira, L. F., Daniel, A. P., Piccolo, J., Klein, B., Ruviano, A. R., & Emanuelli, T. (2017). Infusão de *alloysia triphylla*: Efeitos opostos em um teste de atividade antioxidante in vitro e na estabilidade oxidativa de patês de pescado refrigerados. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 34(2). <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v34i2.53180>
- Fiorentini, Â. M., Sawitzki, MC, Bertol, TM, & Sant’Anna, ES (2009). Viabilidade de *Staphylococcus xylosum* isolados de embutidos artesanais para aplicação como cultivos iniciadores em produtos cárneos. *Revista Brasileira de Microbiologia*, 40, 129-133.
- Gomes, J. C., & Oliveira, G. F. (2011). Análises físico-químicas de alimentos. *UFV*.
- Gonçalves, A. A., & Cezarini, R. C. R. C. R. (2008). Agregando valor ao pescado de água doce: defumação de filés de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 3(2), 63-79. <https://doi.org/10.18817/repesca.v3i2.73>
- Gospavic, R., Kreyenschmidt, J., Bruckner, S., Popov, V., & Haque, N. (2008). Mathematical modelling for predicting the growth of *Pseudomonas* spp. in poultry under variable temperature conditions. *International journal of food microbiology*, 127(3), 290-297. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.07.022>
- Inô, M. M. O., Oliveira, A. M., Almeida, L. F. S., Ramos, E. M., & Lima, Í. R. (2020). Avaliação da qualidade sensorial, instrumental e microbiológica de salames tipo italiano, acrescentando culturas starters. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, 9 (11), e66891110449-e66891110449.
- Kassambara, A. (2016). Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses. *R package version*, 1.
- Laranjo, M., Potes, ME, & Elias, M. (2019). Papel das culturas starter na segurança de produtos cárneos fermentados. *Fronteiras em microbiologia*, 10 , 853.
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of statistical software*, 25, 1-18.
- Lobo, C. M. D. O., Torrezan, R., de Furtado, Â. A. L., Antoniassi, R., Freitas, D. D. G. C., de Freitas, S. C., & Mársico, E. T. (2015). Development and nutritional and sensory evaluation of cachapinta (*Pseudoplatystoma* sp) pâté. *Food Science & Nutrition*, 3(1), 10-16. <https://doi.org/10.1002/fsn3.183> Acesso em 01/12/2019.
- Lutz, I. A. (2008). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: ANVISA. http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf Acesso em 15/01/2019.
- Macedo, R. E. F. D., Pflanzler Jr, S. B., Terra, N. N., & Freitas, R. J. S. D. (2008). Production of fermented sausage using probiotic *Lactobacillus* strains: quality characteristics. *Food Science and Technology*, 28, 509-519. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000300002>
- Mendiburu, F. D. (2019). *Agricolae: statistical procedures for agricultural research. (No Title)*.
- Minozzo, M. G. (2005). Elaboração de patê cremoso a partir de filé de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e sua caracterização físico-química, microbiológica e sensorial.

- Minozzo, M. G., Waszczynskij, N., & Boscolo, W. R. (2009). Utilização de carne mecanicamente separada de tilápia (*Oreochromis niloticus*) para a produção de patês cremoso e pastoso. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 19(3), 315-319. <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewArticle/636>.
- Minozzo, M. G., & Waszczynskij, N. (2010). Caracterização sensorial de patê cremoso elaborado a partir de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 5(2), 26-36. <https://doi.org/10.18817/repesca.v5i2.234>
- Monteiro, M. L. G. (2013). Aproveitamento de resíduos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) para elaboração de novos produtos com valor agregado.
- Moura, C. M. C., de Abreu Costa, J., de Sousa, A. M., Santos Filho, J. H., Bacelar, R. G. A., de Oliveira Santos, J. T., & Muratori, M. C. S. (2018). Avaliação da qualidade microbiológica de filés de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) e do gelo e a interação dos fatores após armazenagem. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, 12(1), 10-16. <https://doi.org/10.26605/medvet-v12n1-2137>
- Nakashima, S. M., André, C. D. S. D., & Franco, B. D. G. D. M. (2000). Revisão: aspectos básicos da Microbiologia. *Brazilian Journal of Food Technology*, 3, 41-51.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., & Imports, M. A. S. S. (2019). Package 'vegan'. *Community ecology package, version*, 2(9).
- Oliveira, M. N. D., Sivieri, K., Alegro, J. H. A., & Saad, S. M. I. (2002). Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 38, 1-21. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322002000100002>
- Osawa, C. C., Felício, P. E. D., & Gonçalves, L. A. G. (2005). Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Química Nova*, 28, 655-663.
- Paiva Soares, K. M., & Gonçalves, A. A. (2012). Qualidade e segurança do pescado. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 71(1), 1-10. https://www.researchgate.net/profile/Alex_Augusto_Goncalves/publication/267449264_Qualidade_e_seguranca_do_pescado/links/54625b870cf2c0c6aec1b085/Qualidade-e-seguranca-do-pescado.pdf.
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica.
- Piccolo, J., Daniel, A. P., Klein, B., Ferreira, L. F., Ruviano, A. R., Emanuelli, T., & Kubota, E. H. (2014). Oxidative stability of refrigerated fish pates containing loquat seed extract. *Ciência Rural*, 44, 1705-1710.
- Pinto, L. P. S., Almeida, P. C., Baracho, M., & Simioni, P. U. (2015). O uso de probióticos para o tratamento do quadro de intolerância à lactose. *Ciência & Inovação*.
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Ramírez, J. A., Velazquez, G., Echevarría, G. L., & Torres, J. A. (2007). Effect of adding insoluble solids from surimi wash water on the functional and mechanical properties of pacific whiting grade A surimi. *Bioresource technology*, 98(11), 2148-2153. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.024>
- Ramos, E. M., & de Miranda Gomide, L. A. (2007). *Avaliação da qualidade de carnes: fundamento e metodologias*. UFV.
- Reis, D. H. C. (2017). Avaliação do perfil microbiológico do peixe *Pseudoplatystoma corruscans* e *Colossoma macropomum* (pintado e tambaqui), comercializado no município de Rolim de Moura, tendo em foco a saúde pública. *Revista Brasileira de Ciências da Amazônia/Brazilian Journal of Science of the Amazon*, 6(1), 21-28. <https://www.periodicos.unir.br/index.php/rolimdemoura/article/view/2037>.
- Ribeiro, B. D., do Nascimento, R. P., Pereira, K. S., & Coelho, M. A. Z. (2018). *Microbiologia Industrial: Alimentos* (Vol. 2). Elsevier Brasil.
- Secci, G., & Parisi, G. (2016). From farm to fork: Lipid oxidation in fish products. A review. *Italian Journal of Animal Science*, 15(1), 124-136. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2015.1128687>
- Silva, N., Junqueira, V. C. A., Silveira, N. F. A., Taniwaki, M. H., Gomes, R. A. R., & Okazaki, M. M. (2017). Manual of methods of microbiological analysis of food and water; 5th ed., São Paulo: Blucher, 560p. ISBN: 978-85-212-1225-6
- Soares, V. M., Pereira, J. G., Izidoro, T. B., Martins, O. A., Pinto, J. P. D. A. N., & Biondi, G. F. (2011). Qualidade microbiológica de filés de peixe congelados distribuídos na cidade de Botucatu-SP. *UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde*, 85-88.
- Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T., & Dugan, L. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 37, 44-48. <https://doi.org/10.1007/BF02630824>
- Wendling, L. K., & Weschenfer, S. (2013). Probióticos e alimentos lácteos fermentados-uma revisão. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 68(395), 49-57. <https://doi.org/10.5935/2238-6416.20130048>
- Wickham, H., François, R., Henry, L., Müller, K., & Wickham, M. H. (2019). Package 'dplyr'. *A Grammar of Data Manipulation. R package version*, 8.
- Whiting, R. C. (1995). Microbial modeling in foods. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 35(6), 467-494. <https://doi.org/10.1080/10408399509527711>
- Zhou, K., Gui, M., Li, P., Xing, S., Cui, T., & Peng, Z. (2012). Effect of combined function of temperature and water activity on the growth of *Vibrio harveyi*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, 1365-1375. https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822012000400018&script=sci_abstract&tlng=pt