UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

SINTHYA MEIRE LOPES DE ARAÚJO SUSSEL

**Aplicação de transglutaminase microbiana em *fishburger* de lambari
(*Astyanax lacustris*)**

Pirassununga

2021

SINTHYA MEIRE LOPES DE ARAÚJO SUSSEL

**Aplicação de transglutaminase microbiana em *fishburger* de lambari
(*Astyanax lacustris*)**

VERSÃO CORRIGIDA

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientador: Profa. Dra. Alessandra Lopes de Oliveira

Pirassununga

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S964a Sussel, Sinthya Meire Lopes de Araújo
Aplicação de transglutaminase microbiana em
fishburger de lambari (*Astyanax lacustris*) /
Sinthya Meire Lopes de Araújo Sussel ; orientador
Alessandra Lopes de Oliveira. -- Pirassununga, 2021.
140 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade
de São Paulo.

1. Lambari. 2. Carne Mecanicamente Separada. 3.
Fishburger. 4. Pescado. 5. SPME. I. Oliveira,
Alessandra Lopes de, orient. II. Título.

SINTHYA MEIRE LOPES DE ARAÚJO SUSSEL

**Aplicação de transglutaminase microbiana em *fishburger* de lambari
(*Astyanax lacustris*)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências do programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Data de Aprovação: 11/11/2021

Banca Examinadora

Prof.(a) Dr.(a) Alessandra Lopes de Oliveira

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA-USP)

Presidente da Banca Examinadora

Prof.(a) Dr.(a) Dariane Beatriz Schoffen Enke

Instituição: Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP)

Prof.(a) Dr.(a) Elisabete Maria Macedo Viegas

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA-USP)

Prof.(a) Dr.(a) Marco Antônio Trindade

Instituição Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA-USP)

DEDICATÓRIA

Dedico,

Ao meu esposo, Fábio, ser humano incrível... quanto incentivo, compreensão, paciência e empenho com que participa da minha formação, e cuida do nosso sagrado familiar. É um privilégio estar ao seu lado.
Obrigada, São José!!!

À minha filha, Valentina, que espero um dia compreender minhas ausências durante a obtenção desse título.

À minha amada Mãe, Gilene, por ter recebido minha alma nesse mundo e me dado o melhor patrimônio dessa vida, meus irmãos Talis (*in memória*) e Carol.

Aos meus amados avós maternos, Luiz (*in memória*) e Filomena, que desde cedo me mostraram quão importante é o estudo. Obrigada por me tornar possível, e por me ensinarem “a partir”, sem esquecer onde as minhas raízes nasceram. Dedico, com amor e gratidão, a colheita desse fruto, resultado das sementes que vocês me ensinaram e me viram plantar.

Aos meus tios e tias, sempre tão participativos em minha vida... em especial Gertudes, que sempre me ensinou que começar certo é começar por uma graduação. Obrigada por tudo, Tia.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Eng. Agrônomo, Fernando de Sousa Costa, por proporcionar, desde 1945, com a criação da Escola Prática de Agricultura de Pirassununga, ensino de qualidade, valorizando o estudo e o trabalho no campo, abrindo portas para, no futuro, se tornar o que hoje é a Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - maravilhoso Campus. Gratidão por todo o legado deixado, especialmente como exemplo de ser humano e político.

Judite, você que é pra poucos...

[...] tão cheia de essência.

Obrigada pela leveza que é estar na sua companhia e pelo privilégio que foi ter cruzado com a sua alma nesse plano.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder o privilégio de estar aqui. Os nossos sonhos não coincidiram. Mas, ainda bem que a vontade dEle prevaleceu. “Deus escreve certo em linhas retas, e não tortas”.

A essa instituição, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, gratidão é a minha palavra de ordem. Obrigada pelo ensino gratuito e de qualidade. Aqui, adquiri conhecimento e conheci equipamentos de última geração; através da ciência, da pesquisa e da natureza conheci pessoas ímpares, e mais que isso, desfrutei junto à minha família desse Campus que poderia se chamar “Mãe USP”. Que Campus!!!

Aos Professores dessa instituição, que ora não sendo da minha área de formação, sempre foram pacientes no compartilhar do conhecimento, demonstrando competência e compromisso com a ciência e com o ensino. Professores: Judite, Alessandra, Eliana, Carlos A. F. Oliveira, Carmem, Marco Antônio, Elisabete, Fernanda, Rose e Christiane. Muito obrigada!

A Professora Dra. Judite Lapa Guimarães, por todo conhecimento compartilhado (ora na pesquisa, no Estágio PAE e avaliação dos projetos de pesquisa do Comitê de Ética); por toda paciência, especialmente no que diz respeito à tentativa da minha orientação. Aqui fica o meu reconhecimento: à Professora que escolhi, desde o primeiro encontro, para ser Minha Orientadora. Obrigada, Professora! Pela amizade, pela jardinagem e por enxugar minhas lágrimas em meio a tantas perdas e desconfortos nesse último ano, muito obrigada!!!

A minha Orientadora oficial, Prof.^a Dra. Alessandra Lopes de Oliveira, ligada no 220, obrigada é pouco diante de tudo que fizeste por mim, por “nós” ... desde me acolher na orientação na pós, compartilhar conhecimento até acolher em sua casa, minha pequena Valentina, enquanto eu realizava as análises cromatográficas.

Ao Prof. Dr. Carlos A. F. Oliveira, obrigada por todo apoio durante o processo de orientação no início desse mestrado, e pelos ensinamentos transmitidos na disciplina de Microbiologia dos Alimentos. Que disciplina!!!

A Professora Dra. Eliana Kamimura, pelo conhecimento compartilhado nas disciplinas de Microbiologia dos Alimentos e Planejamento Experimental, bem como permitir o uso de seu laboratório nas análises microbiológicas dessa pesquisa. Obrigada também pelo ser Humano incrível que és, por amar a Valentina como sobrinha [É recíproco], e por deixar o ZEA ainda mais florido – você já percebeu que Deus costuma se esconder nos jardins...

À Profa. Elisabete Macedo Viegas - que durante a realização desse experimento foi Diretora da FZEA, obrigada pelo empenho na condução dessa faculdade num momento difícil com a atual pandemia, bem como permitir o uso do seu laboratório e auxílio dos seus técnicos no desenvolvimento desse experimento. Vocês foram fundamentais.

Ao pesquisador Dr. Fábio Sussel, por desenvolver os equipamentos do Kit Lambaricultura, facilitando - e muito, nosso trabalho nas fases iniciais desse projeto e por toda ajuda e suporte dado durante o experimento.

As pisciculturas Santa Cândida, pelo cultivo e comprometimento de “segurar” os peixes para este experimento além do tempo necessário, diante das restrições impostas pela pandemia, e Zero Grau, na pessoa do Neuri, por nos permitir, gratuitamente, uso das suas instalações e equipamentos, no processamento do lambari, além de refeição e bolinho de chuva de sobremesa. Obrigada!

Aos técnicos dos laboratórios pelos quais passei, Apolinário, Daflin, Nilson, Camila, Marcelo, Marina e Alan. Muito obrigada. Vocês foram essenciais no desenvolvimento dessa pesquisa. Apolinário e Nilson, um agradecimento especial a vocês dois, que com dedicação e gentileza, me ajudaram na obtenção da CMS e na captura dos voláteis nas análises cromatográficas.

A minha querida Larissa Rodrigues, por toda ajuda, paciência e amizade. Esse título também é seu. Obrigada por me mostrar, com sua pureza, que o ser humano, quando adulto, ainda pode ser bom.

A colega de laboratório, Aline Delgado, por toda ajuda nas análises dessa pesquisa, mesmo num momento de perda.

Aos colegas dos laboratórios LAMASA, LaQueCa e LTAPPN, pela companhia e ajuda mútua nesses anos de convivência... e as queridas parceiras de disciplinas: Renata, Dannaya, Paula e o gente boa Samuca.

Ao meu orientador de graduação, prof. Dr. Alex Augusto Gonçalves, por ter me conduzido para a área de processamento do pescado, me fazendo perceber que oceanografia geológica não era a minha praia. Muito obrigada!

As minhas amigas de graduação, também estudantes de pós graduação e mães, Klébica e Renata, obrigada pela amizade, incentivo e cumplicidade. Vocês são pra vida inteira.

As mães, Mirian, Nayangle e Dona Helena, que na ausência do meu esposo, me socorreram com a Valentina durante as vezes que precisei ficar no laboratório. A vocês, meu muito obrigada!

Aos membros da banca, pelas contribuições que serão essenciais para finalizar esse trabalho.

A secretaria de pós graduação desta Faculdade, pelo excelente atendimento, especialmente na pessoa da Érica e Kefilin.

Aos membros da Biblioteca e do Setor de Informática desta Faculdade, pelo excelente atendimento e presteza em ajudar sempre.

A companhia Ajinomoto, pela concessão das amostras da enzima transglutaminase microbiana.

A FAPESP pelo financiamento dessa pesquisa, sob o processo nº 2018/08920-5, e a CAPES, pelo auxílio da Bolsa Emergencial, durante os meses de dedicação exclusiva no curso de mestrado.

E por fim, a todos que fazem dessa Faculdade um lugar singular, desde os vigilantes que cuidam da segurança do Campus até o Arthur, que sempre com um sorriso deixa tudo limpinho pra gente trabalhar. Muito Obrigada, FZEA!

EPÍGRAFE

*“Que importa que ao chegar eu nem pareça pássaro.
Que importa que ao chegar venha me arrebatando, caindo aos pedaços,
sem aprumo e sem beleza!
Fundamental é cumprir a missão
e cumpri-la até o fim.”*

Dom Helder Câmara

RESUMO

SUSSEL, S. M. L. A. **Aplicação de transglutaminase microbiana em fishburger de lambari (*Astyanax lacustris*)**. 2021. 140 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

Parte da população ainda encontra dificuldade em adicionar o pescado à dieta, seja pelo elevado preço ou até mesmo, por dificuldades na hora do preparo. Uma forma de incentivar o consumo seria oferecer produtos com alto valor nutricional, custo acessível, e fácil preparo. Assim, o uso da tecnologia de produção de carne mecanicamente separada (CMS) para obtenção de polpa de espécies de peixes de pequeno porte como o lambari (*Astyanax* sp) se mostra uma alternativa interessante para obtenção de uma matéria-prima de excelente qualidade e desenvolvimento de produtos. A CMS do lambari rosa apresenta coloração naturalmente rosada, e a enzima transglutaminase microbiana (MTGase) vem demonstrando viabilidade na melhora da textura de produtos reestruturados e formatados como o *fishburger*. Estas características em conjunto podem aumentar a aceitabilidade, possibilitando o desenvolvimento de um alimento saudável, fácil de preparar e com características sensoriais atrativas. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi desenvolver fishburger a partir de CMS de lambari rosa, avaliando a utilização da MTGase como agente para melhora da textura. Foram realizados dois estudos: no Estudo 1 avaliou-se a aplicação de MTGase (0 a 0,7%), proteína isolada de soja - PIS (0 a 3,5%) e amido (0 a 2,5%) nos fishburgers elaborados com CMS lavada, para posterior análise de parâmetros de qualidade e textura. Adicionalmente, os compostos voláteis foram extraídos dos fishburgers com e sem fumaça líquida pela técnica de micro extração em fase sólida (SPME) e identificados por cromatografia gasosa (CG) acoplada a espectrofotometria de massas (EM). No Estudo 2 os fishburgers foram elaborados com CMS não lavada, utilizando Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), tendo como variáveis independentes a PIS (0 a 3%) e a MTG (0 a 1,5%), e como variáveis dependentes, os parâmetros de textura (dureza, gomosidade, coesividade, elasticidade e mastigabilidade), percentual de encolhimento, perda de peso por cocção, Croma, e os parâmetros sensoriais (maciez, suculência, gomosidade, mastigabilidade e aceitação sensorial). A matéria-prima utilizada nos dois estudos, bem como os produtos desenvolvidos estavam de acordo com os padrões microbiológicos das legislações vigentes. Na composição química básica verificou-se que a CMS de lambari possui elevado teor de umidade, baixo teor de lipídios e proteína ao redor de 13%; observou-se também redução do teor de cinzas da CMS em comparação ao corpo do lambari. A análise dos ácidos graxos do corpo de lambari indicou que o ácido palmítico, oléico e linoléico foram os mais expressivos, com 142,29 mgAG/g, 203,81 mgAG/g e 84,74 mgAG/g, respectivamente. A análise de

compostos voláteis presentes nos fishburgers revelou aromáticos como nonanal (aroma natural de peixe), limoneno, bem como outros compostos fenólicos caracterizados pela presença da fumaça líquida na formulação do Estudo 1. No Estudo 2 o efeito das diferentes concentrações de PIS e MTGase nos fishburgers dos diferentes ensaios pôde ser modelado por meio do modelo fatorial completo apenas para os parâmetros Croma e Suculência (parâmetro da Análise Sensorial), verificando-se que maiores concentrações de MTGase e menores de PIS geram fishburgers mais suculentos e de coloração mais intensa, além de uma tendência de maior encolhimento nas amostras que continham menor porcentagem de PIS. A análise de textura (TPA) indicou diferença significativa entre fishburgers de vários ensaios nos parâmetros analisados, tendo os fishburgers com 1,5% de PIS e 1,5% de MTGase apresentado os maiores valores de dureza, gomosidade, coesividade, elasticidade e mastigabilidade, com valores de 4691,03 Kgf, 3584,23 J, 0,764*, 0,901mm e 3231,85 Kgf, respectivamente. Os resultados da análise sensorial indicaram que *fishburgers* com concentrações médias de MTGase (0,75%) e PIS (1,5%) foram bem aceitas pelos avaliadores, obtendo-se nota de 7,5 equivalente a “Gostei moderadamente e Gostei muito”. Na análise de correlação de Pearson e Análise de Fatores Múltiplos observou-se altas correlações positivas entre os parâmetros da Textura Instrumental (Dureza, Mastigabilidade e Gomosidade) e tendência de correlações negativas significativas entre tais parâmetros e a aceitação sensorial. A análise de Microscopia Eletrônica de Varredura indicou a presença de micro fragmentos ósseos nos fishburgers e em formulações com maiores concentrações de MTGase os fishburgers apresentaram maior porosidade. Os resultados obtidos indicam a necessidade de uma legislação própria para produtos oriundos do pescado, considerando que os teores de proteína nos fishburgers não atingiram o valor mínimo de 15% exigido na legislação brasileira para hambúrguer. Embora a tecnologia de produção de CMS seja utilizada majoritariamente para o melhor aproveitamento de carcaças e aparas do pescado, esse estudo mostrou que também é possível utilizar a tecnologia para a produção de alimentos a partir de espécies de pequeno porte e que a CMS não lavada do lambari rosa se constitui em uma matéria-prima especialmente viável para a elaboração de fishburgers, valorizando a utilização de espécies de pequeno porte da aquicultura brasileira na alimentação humana e diversificando os produtos de pescado nas gôndolas de supermercados.

Palavras-chave: lambari, carne mecanicamente separada; textura; pescado; SPME.

ABSTRACT

SUSSEL, S. M. L. A. **Microbial transglutaminase application in fishburger lambari (*Astyanax lacustris*)**. 2021. 140 f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

Including fish to the diet is still difficult for part of the population, either because of its high price or even because of difficulties in preparing it. Fish consumption could be encouraged by offering to the consumers affordable products with high nutritional value and easiness to cook. The use of mechanically separated meat (MSM) production technology to obtain the mince of small fish species such as lambari (*Astyanax* sp) is an interesting alternative for obtaining raw material of high quality that can be used in development of products. Good results concerning sensorial acceptability could be achieved combining the use of MSM from lambari rosa, which has a naturally attractive light pink color, and the microbial transglutaminase (MTGase), an enzyme able to improve the texture of restructured and formatted products such as fishburger. Thus, the aim of this study was to develop fishburger using MSM from lambari rosa and to evaluate the effects of microbial transglutaminase as an agent to improve texture. Two studies were carried out: in Study 1, the application of MTGase (0 to 0.7%), isolated soy protein - ISP (0 to 3.5%) and starch (0 to 2.5%) in fishburgers prepared with washed MSM was evaluated. Composition, microbiological and texture parameters were analyzed. In addition, volatile compounds were extracted by the solid phase microextraction technique (SPME) from fishburgers prepared with and without liquid smoke and quantified by gas chromatography (GC) coupled with mass spectrophotometry (MS). In Study 2, fishburgers were prepared with unwashed MSM, using a Central Composite Rotational Design (DCCR), with ISP (0 to 3,0%) and MTGase (0 to 1.5%) as independent variables, and texture parameters (hardness, gummyness, cohesiveness, elasticity and chewiness), shrinkage percentage, cooking weight loss, Chroma, and sensory parameters (softness, juiciness, gummyness, chewiness and sensory acceptance) were assessed as dependent variables. The raw material used in both studies was in accordance with the microbiological standards of current legislation. MSM from lambari showed high moisture and low lipid contents, and protein around 13%. It was also observed a reduction in the ash content of MSM compared to the cleaned body of lambari. The analysis of fatty acids from the cleaned body of lambari indicated that palmitic, oleic and linoleic acid were the most expressive, with contents of 142.29 mg/g, 203.81 mg/g and 84.74 mg/g, respectively. The analysis of volatile compounds revealed aromatics such as nonanal (natural fish aroma), limonene, as well as other phenolic compounds related to the presence of liquid smoke in one of the formulations of Study 1. In Study 2, the effect of different concentrations of ISP and MTGase in the fishburgers of the different assays could be modeled using the full factorial model

only for the parameters Chroma and Juiciness (Sensory parameter), showing that higher concentrations of MTGase and lower ISP generate juicier fishburgers with more intense color. In addition, there was a trend towards greater shrinkage in fishburgers that contained a lower percentage of ISP. Texture analysis (TPA) indicated a significant difference between fishburgers from several assays, with fishburgers with 1.5% ISP and 1.5% MTGase showing the highest values of hardness, gumminess, cohesiveness, elasticity and chewiness, with values of 4691.03 N, 3584.23 J, 0.764*, 0.901mm and 3231.85N, respectively. The results of the sensory analysis indicated that fishburgers with average concentrations of 0.75% MTGase and 1,5% ISP were well accepted by the consumers, obtaining a score of 7.5, equivalent to "I liked it moderately and I liked it a lot". Pearson correlation analysis and Multiple Factor Analysis allowed to observe high positive correlations among the parameters of the Instrumental Texture (Hardness, Chewiness and Gumminess) and a trend of significant negative correlations between these parameters and sensory acceptance. Scanning Electron Microscopy analysis showed the presence of micro bone fragments in fishburgers, and in addition, fishburgers with higher concentrations of MTGase showed greater porosity. The results obtained in this study indicate the need for a specific legislation for products from fish, considering that the protein content in fishburgers did not reach the minimum value of 15% required in the Brazilian legislation for hamburgers. Although the MSM production technology is mostly used for recovering muscle from fish carcasses and trimmings, this study showed that it is also possible to use the technology for the production of MSM from small fish species. The unwashed MSM from lambari rosa is an especially viable raw material for the production of fishburgers, that could add value to a small fish species from Brazilian aquaculture and diversify fish products on supermarket shelves.

Keywords: Lambari, minced fish, texture, fish, SPME.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Lambari rosa (<i>Astyanax lacustris</i>)	26
Figura 2 – Oportunidades de aplicação da MTGase na indústria de alimentos	33
Figura 3 – Fluxograma operacional de obtenção da CMS de lambari rosa.....	40
Figura 4 – Cromatograma completo dos Íons Totais (CIT) da fumaça líquida.	63
Figura 5 – Ampliação do Cromatograma de Íons Totais da fumaça líquida - 5 a 20 min.....	63
Figura 6 – Cromatograma completo de íons totais (CIT) da fumaça líquida (preto), F1 (ROSA) e F8 (AZUL), ampliado de 11 a 21 min e de 26 a 33 min..	64
Figura 7 – Cromatograma da solução padrão de alcanos (C10-C40)	68
Figura 8 – Diagrama de Pareto dos efeitos de PIS, MTGase e interação PIS-MTGase (1by2) sobre a variável resposta Croma determinada em <i>fishburgers</i> elaborados com CMS de lambari rosa obtidos a partir do fatorial completo 2 ²	103
Figura 9 – Curvas de Contorno geradas pelo modelo de primeira ordem que descreve a influência da PIS e da MTGase para o parâmetro Croma dos <i>fishburgers</i> elaborados com CMS de lambari rosa.....	103
Figura 10 – Diagrama de Pareto dos efeitos de PIS, MTGase e interação PIS-MTGase (1by2) sobre a variável resposta e parâmetro da análise sensorial Suculência determinada em <i>fishburgers</i> elaborados com CMS de lambari rosa obtidos a partir do fatorial completo 2 ²	107
Figura 11 – Curvas de Contorno geradas pelo modelo de primeira ordem que descreve a influência da PIS e da MTGase para o parâmetro da análise sensorial Suculência, avaliada em <i>fishburgers</i> elaborados com CMS de lambari rosa.	108
Figura 12 – Gráficos obtidos na análise de penalidades dos parâmetros da análise sensorial dos <i>fishburgers</i> de CMS de lambari rosa dos diferentes ensaios. A) Ensaios E1, E2, E3 e E4; B) Ensaios A8, A9, A10 e A11; C) Ensaios C1, C2, PC5 e PC7	113

Figura 13 – Gráficos obtidos da Análise de Fatores Múltiplos (MFA): (a) – representação dos parâmetros analisados nos *fishburgers* dos diferentes ensaios em relação aos fatores F1 e F2; (b) – representação do posicionamento dos *fishburgers* em relação aos fatores..... 119

Figura 14 – Micrografias de *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa dos ensaios E2, A9 e A11 121

Figura 15 – Micrografias de *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa dos ensaios PC5 e C..... 122

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulações utilizadas na elaboração dos <i>fishburgers</i> de CMS de lambari no Estudo 1, com as variações nas concentrações de Proteína Isolada de Soja (PIS), Transglutaminase Microbiana (MTGase), Amido e Fumaça Líquida.....	44
Tabela 2 – Valores utilizados no DCCR para produção dos <i>fishburgers</i> de CMS de lambari rosa no Estudo 2.....	45
Tabela 3 – Matriz do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para elaboração das formulações de <i>fishburger</i> de CMS de lambari rosa	45
Tabela 4 – Valores de significância determinados no Teste de Levene para homoscedasticidade de variâncias e teste estatístico utilizado para cada parâmetro avaliado, e indicação de inclusão ou não na Análise de Fatores Múltiplos (MFA)	55
Tabela 5 – Rendimento global do lambari rosa em cada etapa do processo...	56
Tabela 6 – Composição química básica (%) de lambari rosa - corpo limpo (P), carne mecanicamente separada (CMS), resíduo (R) e carne mecanicamente separada lavada (CMS L).....	57
Tabela 7 – Valores de Dureza, Gomosidade, Coesividade, Elasticidade e Mastigabilidade obtidos na análise de perfil de textura de <i>fishburgers</i> de CMS de lambari rosa grelhados, elaborados com diferentes concentrações de proteína isolada de soja (PIS), transglutaminase microbiana (MTGase) e Amido (A)....	61
Tabela 8 – Compostos voláteis identificados pelos tempos de retenção obtidos no cromatograma completo dos íons totais da fumaça líquida e dos <i>fishburgers</i>	65
Tabela 9 – Rendimento global para o lote de lambari rosa.....	69
Tabela 10 – Composição química básica, valores de pH e bases nitrogenadas voláteis em corpo limpo e carne mecanicamente separada não lavada (CMS) e lavada (CMS L) de lambari rosa.....	71
Tabela 11 – Valores médios de ácidos graxos de corpo limpo de lambari rosa liofilizado (n=2)	74

Tabela 12 – Avaliação microbiológica do corpo limpo e da carne mecanicamente separada (CMS) de lambari rosa	78
Tabela 13 – Composição química básica dos <i>fishburgers</i> elaborados com CMS de lambari rosa dos diferentes ensaios para avaliação da aplicação da transglutaminase microbiana (MTGase).....	80
Tabela 14 – Valores de Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV) dos <i>fishburgers</i> elaborados com CMS de lambari rosa	83
Tabela 15 – Avaliação microbiológica de <i>fishburgers</i> de CMS de lambari rosa de ensaios escolhidos aleatoriamente	84
Tabela 16 – Valores de Dureza, Gomosidade, Coesividade, Elasticidade e Mastigabilidade obtidos na análise de perfil de textura de <i>fishburgers</i> de CMS de lambari rosa grelhados, elaborados com diferentes concentrações de proteína isolada de soja (PIS) e transglutaminase microbiana (MTgase)	86
Tabela 17 – Percentuais de encolhimento, perda de peso por cocção e valores de Croma determinados em <i>fishburgers</i> elaborados com CMS de lambari rosa e diferentes concentrações de proteína isolada de soja (PIS) e transglutaminase microbiana (MTGase).....	87
Tabela 18 – Tabelas ANOVA avaliando os efeitos das variáveis PIS (1) e MTGase (2) e a interação entre elas (1 e 2) nas variáveis respostas dos dados obtidos no delineamento experimental (Continua)	88
Tabela 19 – ANOVAS das regressões dos modelos de primeira e segunda ordem das variáveis respostas (MS Residual) (Continua).....	92
Tabela 20 – Valores (média $\pm$ desvio padrão – $n \geq 3$) dos parâmetros sensoriais - Maciez, Suculência, Gomosidade, Mastigabilidade e Impressão global, obtidos na análise de <i>fishburgers</i> de CMS de lambari rosa elaborados com diferentes concentrações de proteína isolada de soja (PIS) e transglutaminase microbiana (MTGase)	110
Tabela 21 – Resultados da Análise de correlação de Pearson entre os parâmetros que apresentaram diferenças significativas nos <i>fishburgers</i> dos diversos ensaios.....	116

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1	MATÉRIA-PRIMA: LAMBARI	25
2.2	CARNE MECANICAMENTE SEPARADA – CMS	26
2.3	HAMBÚRGUER DE PEIXE (<i>FISHBURGER</i>)	29
2.4	TRANSGLUTAMINASE (TGase)	30
2.5	ANÁLISE DO PERFIL DE TEXTURA (TPA)	34
3	OBJETIVOS	36
3.1	OBJETIVO GERAL	36
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
4	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1	MATÉRIA-PRIMA E DEMAIS MATERIAIS	37
4.2	OBTENÇÃO DA CARNE MECANICAMENTE SEPARADA (CMS) E CÁLCULO DE RENDIMENTO	39
4.3	ELABORAÇÃO DOS <i>FISHBURGERS</i>	41
	4.3.1 Planejamento experimental para desenvolvimento dos <i>fishburgers</i>	41
4.4	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS E <i>FISHBURGERS</i>	45
	4.4.1 Determinação da composição química básica	46
	4.4.2 Determinação do perfil de ácidos graxos do lambari rosa	46
	4.4.3 Determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis e pH	46
	4.4.4 Avaliação instrumental de cor	47
	4.4.5 Avaliação instrumental da textura	47
	4.4.6 Análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	48
	4.4.7 Percentual de encolhimento	48
	4.4.8 Perda de peso por cocção	48
4.5	AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	49
4.6	CARACTERIZAÇÃO DOS VOLÁTEIS VIA MICRO-EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPME) E CG/EM	51

4.7	ANÁLISE SENSORIAL DOS <i>FISHBURGERS</i>	52
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS OBTIDOS.....	53
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1	ESTUDO 1	56
5.1.1	Rendimento da matéria-prima (%)	56
5.1.2	Caracterização da matéria-prima.....	57
5.1.3	Análise instrumental de textura dos <i>fishburgers</i> grelhados	58
5.1.4	Caracterização dos voláteis via micro-extração em fase sólida (SPME) e CG/EM.....	63
5.2	ESTUDO 2.....	70
	MATÉRIA-PRIMA.....	70
5.2.1	Rendimento da matéria-prima.....	70
5.2.2	Caracterização da matéria-prima.....	71
	Composição química básica.....	71
	Perfil dos ácidos graxos (AG) de lambari rosa.....	75
5.2.3	Avaliação microbiológica da matéria-prima.....	78
	<i>FISHBURGERS</i>	80
5.2.4	Determinação da composição química básica dos <i>fishburgers</i>	80
5.2.5	Teores de Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV) dos <i>fishburgers</i>	84
5.2.6	Avaliação microbiológica dos <i>fishburgers</i>	85
5.2.7	Avaliação das variáveis estudadas no planejamento experimental aplicados aos <i>fishburgers</i>	86
	Análise do perfil de textura (TPA).....	97
	Percentual de encolhimento e perda de peso por cocção (%PPC)	100
	Determinação da cor instrumental.....	103
	Análise sensorial dos <i>fishburgers</i>	106
5.2.8	Análise de penalidades para os atributos dos <i>fishburgers</i> de lambari rosa.....	112
5.2.9	Análise de correlação de Pearson e Análise de Fatores Múltiplos (MFA).....	116

5.2.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos <i>fishburgers</i> de lambari rosa.....	121
6 CONCLUSÃO.....	124
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	126
ANEXO I	136
ANEXO II	137
APÊNDICE I	138
APÊNDICE II.....	139

1 INTRODUÇÃO

A recente publicação do Estado Mundial da Pesca e Aquicultura (*State of The World Fisheries and Aquaculture*) (SOFIA 2020) - compêndio estatístico da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), mostrou que a aquicultura cresceu 5,3% de 2001 a 2018, e que entre os principais produtores de pescado no mundo está o Brasil, em 13º lugar. Em 2018, a produção mundial de peixes provenientes da aquicultura (continental e marinha) foi de 82,1 milhões de toneladas, alcançando um consumo aparente *per capita* aparente de 20,5 kg (FAO, 2020a).

O censo agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística mostrou que a aquicultura está presente em todos os estados brasileiros (IBGE, 2017). No entanto, em 2020, a pandemia provocada pelo novo COVID-19 impactou a economia mundial, levando o setor de aquicultura a passar por muitos desafios (FAO, 2020b). Apesar da COVID-19 não infectar espécies aquáticas (Bondad-Reantaso *et al.*, 2020), os alimentos vindos da cadeia produtiva da pesca e aquicultura sofreram grandes impactos. As medidas de proteção tomadas pelas autoridades, ora necessárias, têm afetado cada etapa da cadeia de abastecimento do pescado, desde a produção até o processamento, transporte e comercialização no atacado e varejo (FAO, 2020b). No entanto, o pescado continua a ser uma fonte essencial de proteínas animais, micronutrientes e também fonte dos ácidos graxos poli-insaturados, especialmente os da série ômega-3, que auxiliam, de modo geral, na prevenção de muitas doenças (GONÇALVES; ARAUJO, 2010).

No Brasil, apesar do cenário conturbado, a cadeia produtiva da piscicultura cresceu 5,93% em 2020, conforme levantamento realizado pela Associação Brasileira da Piscicultura - PEIXE BR, passando de 758 mil toneladas em 2019 para uma produção de 802.930 toneladas de peixes de cultivo em 2020, com destaque para o Estado de São Paulo como o segundo maior produtor de tilápia do Brasil, com 70 mil toneladas (PEIXE BR, 2021).

Avanços na indústria de alimentos, fatores como o desenvolvimento tecnológico, o crescimento da concorrência externa, o licenciamento de marcas importadas, a competitividade do setor, e, principalmente, a exigência do consumidor que incorporou novos valores às suas preferências (GONÇALVES, 2008), torna necessária a busca por estratégias a fim de aumentar o consumo de pescado, bem como de agregar valor aos produtos fortalecendo a cadeia produtiva, uma vez que produtos oriundos do pescado são cada vez mais populares entre os consumidores de todo o mundo (RUSTAD; STORRØ; SLIZYTE, 2011).

Dentre as espécies de peixes cultivados no Brasil, o lambari (*Astyanax altiparanae*) aparece como a única espécie de pequeno porte no censo 2017 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, com cerca de vinte três mil produtores (IBGE, 2017).

A utilização de peixes de pequeno porte para a industrialização e produção de alimentos para humanos apresenta algumas dificuldades, principalmente relacionadas a retirada de vísceras e escamas. No entanto, recentemente foi disponibilizado comercialmente pela empresa Branco Máquinas um kit de equipamentos atendendo a essas necessidades, patenteado sob o processo nº BR 1020170018717. Este fato pode tornar a lambaricultura ainda mais atraente para otimização de aproveitamento de pequenas espécies para a industrialização (SUSSEL, 2018).

Uma alternativa para incrementar o consumo de pescado cuja obtenção de filé é inviável, como é o caso do lambari, é aumentar a variedade de produtos elaborados após obtenção da carne mecanicamente separada (CMS) a partir do corpo limpo (peixes eviscerados, descamados e descabeçados). Segundo Moraes & Martins (1981) a elaboração de produtos de pescado com base na CMS propicia maior flexibilidade de processamento, em termos de se poder controlar a suculência, textura, sabor e aroma, dependendo do tipo de produto desejado e do tipo de pescado utilizado.

Em reestruturados obtidos a partir da CMS de peixes, como *fishburger* por exemplo, a textura é o atributo que mais interfere na aceitação

(MACHADO et al., 2014). Alguns estudos relataram as dificuldades para o desenvolvimento de produtos que tenham boa aceitabilidade sensorial e altas proporções de CMS na formulação (OLIVEIRA FILHO et al., 2010; MAKRI, 2012). Em outros estudos (TÉLLEZ-LUIS et al., 2002; ALFARO; HERNANDEZ, 2013; MARTELO-VIDAL et al., 2016; YERLIKAYA et al., 2017; CHEN et al., 2019) é possível vislumbrar que a utilização da enzima transglutaminase pode viabilizar a melhora da textura de produtos elaborados a partir de CMS de peixes.

A transglutaminase (TGse) é uma enzima que atua como coadjuvante de tecnologia, catalisando as reações de ligação cruzadas entre moléculas de proteínas. Os efeitos dessa reestruturação, juntamente com sua capacidade de melhorar as propriedades físicas do alimento, torna seu uso bastante interessante tanto na esfera acadêmica quanto pela indústria (LUSTOSA NETO & GONÇALVES, 2021).

A “fumaça líquida” ou extrato pirolenhoso é obtida por um processo de combustão de madeiras selecionadas, sob baixa oxigenação, onde a fumaça é extraída por condensação em água (MONTAZERI et al., 2013). Embora seja uma antiga técnica de conservação dos alimentos, atualmente tem sua finalidade voltada para melhora da qualidade sensorial, como odor, sabor, coloração e textura (SIGURGISLADOTTIR et al., 2000; STOŁYHWO; SIKORSKI, 2005).

Diante do exposto, o objetivo principal desse estudo foi aplicar a enzima transglutaminase microbiana na elaboração do *fishburger* a partir da CMS de lambari rosa, a fim de avaliar as propriedades de textura, aumentando a aceitabilidade do produto final.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MATÉRIA-PRIMA: LAMBARI

O lambari-do-rabo-amarelo, pertencente à família *Characidae*, grupo de espécies estritamente de água doce, é um peixe muito comum em córregos e lagos das bacias hidrográficas brasileiras (FEIDEN et al., 2009). Conhecido cientificamente como *Astyanax altiparanae* (GARUTTI, V., BRITSKI, 2000), em estudo taxonômico recente foi descrito e reconhecido como *Astyanax lacustres* (DE LUCENA; SOARES, 2016). O mesmo vem despertando interesse comercial e na pesquisa por se tratar de um peixe com características zootécnicas desejáveis para produção aquícola por seu fácil manejo, rusticidade, fácil aceitação de diferentes tipos de dietas artificiais, altas taxas de reprodução, curto ciclo de produção, fácil adaptação a diversos sistemas intensivos além de boa comercialização (PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.B.; FORESTI, 2005; ABIMORAD; CASTELLANI, 2011; GONÇALVES et al., 2012).

Com o acelerado crescimento da pesca esportiva e, conseqüentemente, aumento da demanda por iscas-vivas, piscicultores - especialmente da agricultura familiar - deixaram de cultivar outras espécies para se dedicarem a lambaricultura, destacando o estado de São Paulo como maior produtor de isca-viva, e Santa Catarina, sendo sua produção voltada para industrialização do mercado de petisco e engodo (chamariz) na pesca industrial do atum (SUSSEL, 2016, 2018). O lambari apresenta teores em torno de 72,2% de umidade, 15,7% de proteínas, 9,4% de lipídeos, e 2,2% de matéria mineral (TACO, 2011).

O lambari rosa (**Figura 1**), descende do lambari-do-rabo-amarelo (SUSSEL, 2019) (ver parecer ANEXO I), vem apresentando desempenho produtivo similar ao seu ascendente. Estudo genético preliminar em andamento mostrou comprovação parental em 100% similaridade por testes

moleculares entre as espécies. Entretanto, há necessidade de uma análise mais exaustiva, para que se tenha uma conclusão definitiva.

Figura 1 – Lambari rosa (*Astyanax lacustris*)

Fonte: Própria autoria

Em estudos já realizados pela equipe do Laboratório de Qualidade e Estabilidade de Carne e Produtos Cárneos (LaQuECa), Souza (2019, No prelo) verificou que a CMS de lambari-do-rabo-amarelo apresenta coloração acinzentada, e por isso, uma certa rejeição dos produtos oriundos dessa tecnologia pelos consumidores, diferentemente da CMS obtida de lambari rosa, que apresenta uma melhor aceitação sensorial devido a sua cor levemente rosada.

2.2 CARNE MECANICAMENTE SEPARADA – CMS

Uma percepção de dificuldade de compra, pré-preparo e uso culinário, expectativa de alto custo, e propriedades indesejadas de algumas variedades de peixe, tais como ossos e odor forte, podem inibir o consumo de pescado (LEEK; MADDOCK; FOXALL, 2000). Deste modo, um desafio tecnológico que

se impõe é o desenvolvimento de produtos que atendam às exigências e expectativas do consumidor potencial de pescado.

Espécies subutilizadas e aquelas oriundas da fauna acompanhante têm despertado o interesse mundial e principalmente da indústria de beneficiamento do pescado, com a finalidade de melhorar a alimentação humana a partir de tecnologias emergentes, como a produção de reestruturados e embutidos (ESTANECH, 2018).

Há no mercado tecnologias que podem ser utilizadas para o processamento do pescado e a elaboração de produtos de alto conteúdo proteico e baixo custo, com agregação de valor a partir de espécies subutilizadas. Dentre tais, podemos citar a produção de Carne Triturada de Pescado (CTP) e a Carne Mecanicamente Separada (CMS), ambos produtos intermediários para o desenvolvimento de produtos de conveniência e com valor agregado (GONÇALVES, 2011).

A *Codex Alimentarius* define CMS ou *minced fish* como o produto obtido a partir de uma única espécie, ou mistura de espécies de peixes com características sensoriais semelhantes, através de processo mecanizado da parte comestível, gerando pequenas partículas de músculo isento de vísceras, pele, ossos e escamas (FAO, 1994).

Embora a legislação brasileira não contemple a CMS de pescado, muitos estudos citam os padrões de referência para CMS de aves, bovinos e suínos (BRASIL, 2000b). A CMS de pescado pode ser oriunda de espécies de baixo valor comercial assim como resíduo da indústria de processamento e filetagem do pescado, sendo base para produtos formatados e reestruturados de valor agregado. Sua obtenção se dá pela passagem do pescado eviscerado e descabeçado ou de carcaça após a filetagem por uma máquina separadora de carne e ossos, podendo ser lavada com água ou não, drenada, ter umidade ajustada, acondicionada em bloco e congelada (NEIVA, 2021).

A CMS se apresenta como uma das melhores alternativas tecnológicas de aproveitamento da parte comestível do pescado, gerando um

produto cárneo obtido mecanicamente, isento de vísceras, escamas, ossos e pele (MACHADO et al., 2014). De acordo com Moraes & Martins (1981) a utilização de CMS de pescado como base para elaboração de produtos tem vantagens, tais como a redução dos custos pelo maior rendimento em carne, a possibilidade de aproveitamento de diversas espécies e a grande variedade de produtos para desenvolvimento (*fishburger*, salsichas, empanados, enlatados, tirinhas de peixe, *nuggets*). Essas vantagens, além do fato de que na CMS os espinhos estarem ausentes ou desintegrados, se alinham com os desejos do consumidor por produtos com custo adequado, práticos, seguros e com qualidade sensorial.

Além do surimi, um extrato de proteínas miofibrilares (GODOY et al., 2010), uma ampla gama de produtos pode ser obtida da CMS, inclusive aqueles direcionados para consumidor institucional, como escolas, creches, asilos e hospitais (NEIVA, 2021). Dentre os possíveis produtos para elaboração verifica-se que uma série de estudos tem avaliado as características físico-químicas, microbiológicas e aceitação sensorial de *fishburgers* elaborados com CMS (MARENGONI et al., 2009; MELLO et al., 2012; FOGAÇA et al., 2015; PINTO, 2017; BERNADINO FILHO, ALMEIDA XAVIER 2019).

Costa (2017) elaborou *fishburger* com CMS obtida a partir de carcaça e aparas de tilápia e concluiu que é viável a utilização desta como matéria-prima para elaboração de produtos. Maciel et al. (2021) adicionaram diferentes tipos de proteína à *fishburger* de tilápia e concluiu que a adição subprodutos industriais, como soro de leite e farinha de taro podem agregar valor à hambúrgueres de peixe com potencial de mercado. Marengoni et al. (2009) desenvolveram *fishburgers* de CMS de tilápia e observaram que as formulações desenvolvidas foram aceitas pelos consumidores, variando de moderadamente a muito aceitos.

Contudo, apesar dos resultados positivos para uso da CMS como matéria-prima na indústria do pescado, há uma carência no mercado de produtos como *fishburger*, por exemplo, que além de apresentar um alto valor

nutricional, praticidade no preparo, também não oferece perigo para um público específico, como crianças e idosos, devido à eliminação dos espinhos. Essa afirmação pode ser comprovada na publicação da Associação Brasileira das Indústrias de Pescados (ABIPESCA) em revista de comunicação com o setor produtivo do pescado (ver ANEXO II), que descreve que “apenas no Brasil não há hamburger de pescado no cardápio das grandes redes de alimentação”, confirmando a necessidade de desenvolver frentes de comunicação com a indústria, ressaltando não apenas a importância do aproveitamento de pequenas espécies, mas o apelo e a importância da sustentabilidade quando se promove um melhor destino dos resíduos do processamento do pescado (SEAFOOD BRASIL, 2021).

2.3 HAMBÚRGUER DE PEIXE (*FISHBURGER*)

Na legislação brasileira hambúrguer é definido como produto cárneo industrializado obtido da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado, sendo permitido os limites máximos de 30% de carne mecanicamente separada (CMS) para hambúrguer cozido e 4,0% de proteína não cárnea. Nas características físico-químicas, tal legislação estabelece ainda teores mínimos de 15% de proteína e máximo de 23% de gordura (BRASIL, 2000a).

O termo *fishburger* é uma denominação atribuída ao hambúrguer de peixe pela similaridade de preparo com o hambúrguer bovino (DUARTE; VIEIRA; GHERARDI, 2017). A elaboração de produtos como *fishburger* representa uma possibilidade de maior aproveitamento do pescado para alimentação humana. Os *fishburgers* são elaborados à base de carne de peixe desossada, sem pele e vísceras, moída, temperada, moldada, podendo ser ou não congelada, defumada ou não (OETTERER; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2006). Vários estudos foram realizados com hambúrgueres de peixe. Tokur et al. (2004) avaliaram as alterações na qualidade do *fishburger* de

tilápia durante o armazenamento a -18°C . Bainy et al. (2015) estudaram o efeito do cozimento na grelha nas propriedades físico-químicas e de textura do *fishburger* de tilápia do Nilo. Pinto (2017) elaborou *fishburger* com resíduos da filetagem de tilápia do Nilo adicionado de transglutaminase. Costa, Gonçalves & Conti-Silva (2019) caracterizaram química, física e sensorialmente a potencialidade do uso de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo em *fishburgers*. Oliveira et al. (2020) estudaram o enriquecimento de hambúrgueres de peixe com proteínas obtidas a partir da água de lavagem de surimi.

Na obtenção de *fishburger* podem ser adotadas diferentes formulações e processos que visem alcançar maior qualidade tecnológica e sensorial, bem como maior rendimento e aceitação dos produtos finais pelo consumidor (GOÉS-FAVON et al., 2021). Além do fácil preparo, alto valor nutricional e preço acessível, outra vantagem desse tipo de produto é a eliminação dos espinhos e diminuição do odor característico do pescado, atributos muitas vezes caracterizados como barreiras ao consumo de pescado principalmente pelo público infantil (BREDA et al., 2017; BELUSSO et al., 2016).

2.4 TRANSGLUTAMINASE (TGase)

A transglutaminase (EC 2.3.2.13) é uma enzima dependente de cálcio que catalisa a reação de transferência de acil entre os grupos γ -carboxiamida de resíduos de glutamina em proteínas, bem como peptídeos e várias aminas primárias. Quando os grupos ϵ -amino de resíduos de lisina em proteínas atuam como um aceitador de acil, as ligações de ϵ -(γ -Glu)Lys (ligações isopeptídicas) são formadas intra e inter-moléculas, caracterizando a TGase como um coadjuvante de tecnologia, devido a catalização de reações de ligação cruzada entre moléculas de proteína (ANDO et al., 1989; PASTERNAK et al., 1998). Os efeitos desta reestruturação, somado a sua capacidade de melhorar as propriedades físicas do alimento, aumentam o

interesse sobre a TGase tanto da esfera acadêmica quanto da industrial (LUSTOSA NETO & GONÇALVES, 2021). Dessa forma, as reações com transglutaminase levam à formação de agregados proteicos irreversíveis (PASTERNAK et al., 1998).

Esta enzima tem sido encontrada em mamíferos, vertebrados, invertebrados, moluscos, plantas e microrganismos. A descoberta da aplicação da TGase começou com a segregação e purificação da enzima a partir de tecidos animais e sangue. Uma das maneiras para o desenvolvimento de TGases industriais é extrair e purificar a enzima dos tecidos ou fluidos corporais de animais de uso alimentar - bovinos, suínos e peixes - como bacalhau, salmão e linguado. No entanto, a enzima de origem animal raramente é utilizada na fabricação de alimentos, pois é necessária uma protease específica - a trombina - para ativar a enzima, e sua pigmentação vermelha pode não ser adequada por afetar a aparência do produto final (MOTOKI; SEGURO, 1998).

A transglutaminase microbiana (MTGase) é uma enzima extracelular, da classe das *transferases*, produzida comercialmente via fermentação tradicional pelo microrganismo *Streptomyces mobaraense* e amplamente utilizada em diferentes ramos da indústria devido à sua capacidade de modificar as propriedades físicas e químicas das proteínas (ANDO et al., 1989; MOTOKI; SEGURO, 1998; YOKOYAMA; NIO; KIKUCHI, 2004; KIELISZEK; MISIEWICZ, 2014). Tecnicamente, a transglutaminase microbiana permite o desenvolvimento de produtos cárneos bem aceitos pelo consumidor, tanto a partir de espécies de baixo valor comercial, como de carcaças e sobras do processo de filetagem da indústria (SEBBEN et al., 2000; DONDERO et al., 2006). Sua principal vantagem frente às enzimas de outras fontes é ser uma enzima cálcio independente e de massa molecular relativamente baixa. Tais características são importantes na aplicação industrial da enzima (YOKOYAMA; NIO; KIKUCHI, 2004).

A produção de transglutaminase por microrganismos torna possível aplicar tal enzima em uma gama potencialmente ampla de produtos

alimentícios que são estruturados principalmente por uma base de proteínas (**Figura 2**) (GONÇALVES; PASSOS, 2010; ROMEIH; WALKER, 2017).

A indústria da carne é uma das áreas de aplicação mais promissoras para a MTGase, particularmente em produtos reestruturados (ROMEIH; WALKER, 2017). Segundo Nielsen (1995) a MTGase aumenta a dureza dos produtos finais, além de favorecer a produção de produtos processados com baixo teor de gordura.

O primeiro produto alimentar preparado com adição de MTGase foi um concentrado de proteínas miofibrilares de peixe congelado, chamado Surimi, no Japão (GÓES-FAVONI, BUENO, 2014). Gonçalves & Passos (2010) avaliaram em um produto reestruturado a partir de CMS de corvina (*Micropogonias furnieri*) a influência de três concentrações (0,5%, 1,0% e 1,5%) de enzima transglutaminase microbiana comercial (Activa TG-B % v/v e Activa TG-BP % p/p). A concentração de 1,5% de ambas as enzimas comerciais produziu melhores resultados físico-químicos, porém os melhores resultados sensoriais foram obtidos para os produtos elaborados com a Activa TG-B, na forma de solução. Chen et al. (2019) utilizaram a MTGase para melhorar a textura de ovas do pollock do Alasca (*Theragra chalcogramma*) em concentrações de 0,0 a 1,0%. As propriedades mecânicas como a firmeza das ovas e a resistência à quebra dos ovos foram melhoradas com o uso de MTGase, cuja concentração ótima foi de 0,5%. Dondero et al. (2006) relataram que a força máxima do gel em surimi de carapau (*T. murphyi*) foi observada com 0,2% TG aplicada a 25°C durante 2h com um aumento de 364% em relação ao controle sem TG. Kunnath et al. (2015) indicaram que a transglutaminase bacteriana foi eficiente para melhorar a textura de produtos elaborados com *minced fish* de pangásio (*Pangasianodon hypophthalmus*).

Figura 2 – Oportunidades de aplicação da MTGase na indústria de alimentos

Fonte: Adaptado **pela autora de** ROMEIH, E.; WALKER, G. Recent advances on microbial transglutaminase and dairy application. **Trends in Food Science and Technology**, v. 62, p. 133–140, 2017.

Machado et al. (2014) descreveram que o uso de 0,5% da enzima em formulações de medalhão de tilápia com diferentes percentagens de CMS e aparas, resultou em boa reestruturação das matérias primas utilizadas. Em outro estudo, concluiu-se que a transglutaminase foi efetiva em aumentar a vida útil de *mince* de truta arco-íris além de melhorar sua textura (YERLIKAYA et al., 2017) demonstrando que a utilização desta enzima em produtos de pescado pode ser efetiva na solução de dois problemas tecnológicos.

No Brasil, o uso da MTGase é regulamentado pela ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – por meio da RDC nº 205, 2006 - Regulamento técnico sobre enzimas e preparações enzimáticas para uso na produção de alimentos destinados ao consumo humano, sendo obtidos apenas dos microrganismos *Streptoverticillium mobaraense* e *Streptomyces mobaraense*, conforme especificada no Anexo I da RDC Nº 53, 2014, em quantidades suficientes para alcançar o efeito desejado no preparo, não

sendo especificado limites máximos permitidos (GASPAR; GÓES-FAVONI, 2015).

2.5 ANÁLISE DO PERFIL DE TEXTURA (TPA)

A partir do esforço de vários pesquisadores da General Food Corporation em 1963, chegou-se a uma definição geral de textura, que segundo Szczesniak (2002) é a “manifestação sensorial e funcional das propriedades estruturais, mecânicas e superficiais dos alimentos detectadas por meio dos sentidos da visão, audição, tato e cinestésica”.

A classificação dos parâmetros de textura em categorias introduzida por Szczesniak et al. (1963) deram origem ao método de criação de perfil de textura, a análise de perfil de textura (TPA), podendo ser aplicado a medições sensoriais e instrumentais (LOREDO & GUERRERO, 2011).

A textura tem importância fundamental na aceitação de um alimento, e os fatores que afetam essa aceitação são de particular interesse para a indústria de alimentos (SZCZESNIAK, 2002). Segundo Bourne (2002), produtos cárneos são classificados como alimentos críticos, uma vez que a textura é a característica de qualidade mais importante do produto.

Uma maneira de avaliar mecanicamente este atributo sensorial é por meio do texturômetro – equipamento que simula as propriedades mecânicas do alimento na boca (PEREIRA, 2012), sendo possível mensurar parâmetros primários e secundários como dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade e mastigabilidade.

De acordo com Szczesniak, Brandt e Friedman (1963) as características físicas e sensoriais de textura podem ser assim definidas:

- ✓ Dureza: a força necessária para produzir certa deformação ou quebra do alimento entre os dentes molares, sendo que na boca a percepção dessa força se dá entre a língua e o palato.

- ✓ Coesividade: a extensão a que um alimento pode ser deformado antes da quebra ou seja, o grau em que um material é comprimido entre os dentes antes de se romper.
- ✓ Gomosidade: a energia requerida para desintegrar um alimento semissólido até estar pronto para a deglutição, resultando na multiplicação do baixo grau da dureza x alto grau de coesividade.
- ✓ Elasticidade: o atributo de textura que está relacionado à velocidade do alimento deformado voltar a condição inicial sendo importante para estimar o nível de mastigabilidade do alimento, sensorialmente entendida como grau para o qual o produto volta a sua forma original depois da compressão entre os dentes.
- ✓ Mastigabilidade: quantidade de trabalho necessário para mastigar um alimento sólido até a deglutição, sendo a resultante da multiplicação da dureza, coesividade e elasticidade.

Bainy et al. (2015) avaliaram diferentes métodos de cozimento no *fishburger* de tilápia do Nilo relatou que hambúrguer de peixe obtido de CMS apresentou textura mais macia e menor força de cisalhamento do que outros produtos cárneos similares. Coelho et al. (2007) compararam a correlação entre os resultados obtidos na sensorial de *fishburgers* com a textura instrumental, mostrando forte correlação (r variando de 0,73 a 0,76) entre os atributos sensoriais individuais e os parâmetros obtidos instrumentalmente. Os autores concluíram que a dureza instrumental foi correlacionada positivamente aos atributos sensoriais firmeza, elasticidade, gomosidade e fraturabilidade, podendo tais atributos sensoriais descrever a dureza durante a mastigação. Borges et al. (2006) ao analisarem o parâmetro dureza em carne de cabrito e correlação instrumental com a sensorial em carne de cabrito, relataram correlação positiva entre a força de cisalhamento e a dureza sensorial ($r=0,63$, $p<0,05$), assim, à medida que aumenta a força de cisalhamento, aumenta também a percepção de dureza pelos consumidores, concluindo que a análise instrumental da dureza pode ser usada para estimar a dureza sensorial percebida pelos consumidores.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Produzir *fishburger* de lambari rosa a partir de sua carne mecanicamente separada (CMS), avaliando a utilização de transglutaminase microbiana como agente para melhora da textura.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os principais compostos aromáticos presentes em *fishburger* de lambari rosa com e sem adição de fumaça líquida utilizando a SPME (Estudo 1);
- Analisar a aplicação tecnológica da enzima transglutaminase microbiana nas formulações do *fishburger* de lambari rosa por meio de análise de superfície de resposta em relação às suas características de textura instrumental e aceitação sensorial (Estudo 2);

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa envolveu a utilização de animais – peixes (para obtenção da matéria-prima), e seres humanos, que realizaram a avaliação sensorial dos produtos desenvolvidos. Deste modo, o projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado para realização pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Utilização de Animais (CEUA nº 8355181217) e Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos (CAAE 81123517.0.0000.5422, Número do Parecer 4.008.926) (APÊNDICE I).

A pesquisa foi realizada por meio de dois estudos: o Estudo 1 (preliminar) no qual foi desenvolvido *fishburger* com adição de fumaça líquida e estudo dos voláteis; e o Estudo 2, no qual o efeito da MTGase na textura dos *fishburgers* foi avaliado por meio de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Estava planejado um Estudo 3, com o objetivo de avaliar a correlação entre a aceitação sensorial e perfil de voláteis de *fishburgers* com e sem a utilização de fumaça líquida, no entanto, tal estudo se tornou inviável devido a restrições impostas durante a pandemia de SARs-Cov2.

4.1 MATÉRIA-PRIMA E DEMAIS MATERIAIS

Nos dois estudos realizados foram utilizadas como matéria-prima peixes da espécie lambari rosa (*Astyanax lacustris*), oriundos da piscicultura familiar Santa Cândida, localizada na zona rural da cidade de Santa Cruz da Conceição (SP), onde foram abatidos por choque térmico em água e gelo (1:1). Em seguida, os peixes foram acondicionados em caixas isotérmicas e transportados em gelo para o laboratório da Piscicultura Zero Grau, zona industrial de Mogi Mirim (SP), para o processamento inicial (retirada de escamas e vísceras). Por fim, os peixes foram transportados para o Laboratório Multiusuário de Análise Sensorial de Alimentos (LAMASA) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP) -

Pirassununga/SP, onde posteriormente foram descabeçados e lavados em água clorada, e mantidos em gelo até o início da obtenção da CMS (carne mecanicamente separada) e posteriores análises.

Nos Estudo 1 e 2 foram utilizados 11,3 kg e 40,8 kg de lambari rosa, que apresentavam peso médio de 6,95 g e 6,0 g, respectivamente. Para o Estudo 1, o tempo de cultivo dos peixes foi de aproximadamente três meses. Em função da pandemia e das restrições de uso dos laboratórios e circulação nas dependências da universidade, o lote de peixes do Estudo 2 teve um cultivo maior, de aproximadamente 10 meses, e por isso, observou-se durante o processamento uma variabilidade de tamanhos (4 a 10 cm), estágio gonadal das fêmeas bem desenvolvidos e percentual de gordura mais elevado, sugerindo-se que o lote teve diferentes ciclos reprodutivos naturalmente após a primeira reprodução induzida.

Para a elaboração dos *fishburgers* foram utilizados os seguintes ingredientes: CMS de lambari rosa lavada (Estudo 1) e não lavada (Estudo 2), proteína isolada de soja, gordura vegetal, amido (apenas no Estudo 1), cebola em pó desidratada, sal, alho desidratado em pó, pimenta branca em pó, eritorbato de sódio, tripolifosfato de sódio e transglutaminase microbiana. A enzima transglutaminase microbiana, ACTIVA TG-S-NF, foi gentilmente cedida pela Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda., com sede na Avenida Oriente, s/nº, Entre Rios, Cidade de Laranjal Paulista, (SP). Tal enzima foi armazenada em local seco e na ausência de luz até o momento da utilização. Eritorbato de sódio e tripolifosfato de sódio foram obtidos de empresas que comercializam aditivos para a indústria cárnea. Os outros ingredientes foram adquiridos no comércio local. Os reagentes utilizados nas análises físico-químicas e microbiológicas foram de grau analítico.

4.2 OBTENÇÃO DA CARNE MECANICAMENTE SEPARADA (CMS) E CÁLCULO DE RENDIMENTO

A CMS foi obtida seguindo o fluxograma da **Figura 3**. Os peixes inteiros foram pesados, descamados em máquina descamadeira (fulão) por seis minutos, levados à máquina evisceradora de lambari para retirada de vísceras, e lavados em máquina giratória por mais seis minutos para retirada de possíveis resíduos. Os peixes eviscerados foram pesados, manualmente descabeçados, pesados novamente, lavados e armazenados em gelo até o início da obtenção da CMS. Os peixes limpos e descabeçados foram colocados em desossadora mecânica, do tipo rosca-sem-fim, da marca High-tech, modelo HT 250, previamente higienizada, onde foram separados a carne dos espinhos, ossos e pele, obtendo-se como produto final uma polpa rosada.

Para o Estudo 1 a CMS foi obtida pela lavagem em água potável a 5°C, na proporção de três partes de água para uma de CMS (3:1), mediante agitação manual por 5 minutos e descanso por 3 minutos. A recuperação da CMS a partir da mistura de CMS e água foi feita em sacos de tecido do tipo nylon, acomodados em bolsões de aço inox adaptados a uma centrífuga. A centrífuga usada foi uma centrífuga doméstica de roupas, da marca Colormaq (3,7 kg), adaptada para remoção do líquido da CMS lavada (CMS L).

Para o Estudo 2 a CMS não foi lavada, exceto uma pequena porção para fins de comparação. A opção pela não lavagem se deve ao fato de que a CMS de lambari rosa tem coloração atrativa e a lavagem geralmente tem como objetivo a retirada de pigmentos; contudo, lipídios e compostos responsáveis por aroma e sabor também são perdidos no processo. Tanto a CMS lavada quanto a não lavada foram embaladas em sacos plásticos transparentes em porções de 500 g e congeladas a - 18°C, até o início da produção dos *fishburgers*.

O cálculo do rendimento global (perda de peso durante o processamento) foi realizado de acordo com metodologia descrita por Gonçalves (2005).

A matéria-prima foi caracterizada quanto a composição química básica, perfil de ácidos graxos, avaliação de frescor por meio da quantificação de bases nitrogenadas voláteis, bem como avaliação microbiológica para garantir a inocuidade da mesma.

Figura 3 – Fluxograma operacional de obtenção da CMS de lambari rosa

Fonte: Própria autoria

4.3 ELABORAÇÃO DOS *FISHBURGERS*

Para o Estudo 1 os *fishburgers* de lambari foram elaborados de acordo com formulações descritas na **Tabela 1**. No Estudo 2, percentuais de todos os temperos e aditivos foram mantidos os mesmos, exceto o sal, que foi reduzido para 1,0%, a gordura vegetal que foi reduzida para 2,0%, pela exclusão do amido e pela utilização de PIS e MTGase de acordo com o planejamento da **Tabela 3**. Blocos de CMS de 500g foram descongelados sob refrigeração por 24hs e os ingredientes secos usados em cada formulação foram pesados e misturados previamente. As massas para cada formulação foram obtidas misturando-se os ingredientes em batedeira planetária.

Os *fishburgers* foram formatados com peso de aproximadamente 80g e 12,8 cm de diâmetro, em moldador de hambúrguer manual, da marca Picelli e modelo HP-128, utilizando filmes de polietileno 15 x 15 cm, previamente higienizados, para separação de cada *fishburger*. Posteriormente foram colocados em sacos de polietileno, acomodados em bandejas de polietileno identificadas, e armazenados em *freezers* a -18°C até a realização das análises.

4.3.1 Planejamento experimental para desenvolvimento dos *fishburgers*

Os experimentos do Estudo 1 foram realizados conforme o planejamento experimental da **Tabela 1**. Nestes ensaios foram desenvolvidas 8 formulações (F1 a F8) + formulação Controle, com diferentes percentuais de MTGase (0,0% a 0,7%), PIS (0 a 3,5%), amido (0,0 a 2,5%) e CMS variando para completar 100% da formulação. As formulações F7 e F8 continham 0,3% de fumaça líquida. As variáveis respostas determinadas no Estudo 1 foram o perfil de textura (dureza, gomosidade, coesividade, elasticidade e mastigabilidade), além de composição e caracterização dos voláteis via SPME.

No Estudo 2, duas variáveis independentes, a concentração de transglutaminase microbiana (MTGase) e concentração de proteína isolada de soja (PIS) foram investigadas, bem como o efeito de interação de diferentes variáveis independentes nas respostas finais.

A Análise de Superfície de Resposta (ASR) tem sido usada em diferentes procedimentos experimentais para obter resultados confiáveis e informações abrangentes, podendo ser empregado para otimizar os níveis das variáveis independentes na obtenção das respostas desejadas. A ASR reúne uma coleção de sistemas estatísticos e matemáticos que foram usados com sucesso para desenvolver, melhorar e otimizar processo (YASIN et al., 2016).

O planejamento do tipo DCCR - delineamento composto central rotacional (DCCR) (*Central Composite Rotatable Design – CCRD*) foi utilizado como ferramenta para auxiliar na otimização do desenvolvimento do *fishburger* de lambari rosa. O DCCR pode apresentar 2^k pontos fatoriais, pontos centrais e pontos axiais (RODRIGUES; IEMMA, 2014). Foi utilizado um modelo polinomial de primeira ordem (Equação 1) para ajustar as respostas experimentais em função das variáveis independentes:

$$y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_{12}x_1x_2 \dots + \varepsilon \quad (1)$$

onde y representa a variável resposta, β_0 a média geral das respostas para determinada variável, β_1 , β_2 e β_{12} , os coeficientes lineares, x_1 e x_2 as variáveis independentes e ε erro experimental. A análise de variância (ANOVA) foi realizada para as variáveis estudadas, a fim de se determinar os coeficientes e comparar o $F_{\text{calculado}}$ e F_{tabelado} para cada variável, visando a verificação da adequação dos dados ao modelo. Os coeficientes de regressão, quando possível, geram os modelos que são utilizados para gerar as superfícies de resposta (modelo quadrático) ou gráficos de linhas de contorno (modelo linear). Diante das restrições em função da pandemia não

foi possível validar o modelo experimental para melhorar a formulação dos *fishburgers*.

O DCCR estabelecido foi um 2^2 , incluindo 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições no ponto central, totalizando 11 ensaios, acrescidos de triplicata de ensaio Controle. Os níveis utilizados e os ensaios experimentais deste planejamento estão apresentados nas **Tabelas 2 e 3**, respectivamente.

Para caracterização dos *fishburgers* do Estudo 2 foram realizadas análises de todos os ensaios do planejamento, sendo verificados os efeitos de PIS e MTGase por meio do delineamento experimental para as variáveis relacionadas à análise instrumental de cor (Croma), avaliação instrumental da textura (Dureza, Gomosidade, Coesividade, Elasticidade e Mastigabilidade), percentual de encolhimento, perda de peso por cocção e análise sensorial (maciez, suculência, gomosidade, mastigabilidade e impressão global). Adicionalmente também foram realizadas análises composição química básica, Bases Nitrogenadas Voláteis e microscopia eletrônica de varredura. A avaliação da qualidade microbiológica foi realizada em quatro ensaios do planejamento experimental, E4, PC7 A9 e C1.

Tabela 1 – Formulações utilizadas na elaboração dos *fishburgers* de CMS de lambari no Estudo 1, com as variações nas concentrações de Proteína Isolada de Soja (PIS), Transglutaminase Microbiana (MTGase), Amido e Fumaça Líquida

Ingredientes	Tratamento								
	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)	F4 (%)	F5 (%)	F6 (%)	F7 (%)	F8 (%)	Controle (%)
<i>CMS*</i>	82,20	82,00	81,80	81,20	81,00	80,80	83,00	83,00	79,00
<i>Proteína isolada de soja</i>	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0	1,0	3,5
<i>Amido</i>	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	1,0	0,0	2,5
<i>Gordura vegetal</i>	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4
<i>Cebola desidratada</i>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>Sal</i>	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
<i>Alho desidratado em pó</i>	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
<i>Pimenta branca em pó</i>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>Eritorbato de sódio</i>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
<i>Tripolifosfato de sódio</i>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
<i>Transglutaminase m.</i>	0,3	0,5	0,7	0,3	0,5	0,7	0,7	0,7	0,0
<i>Água</i>	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
<i>Fumaça líquida</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	0,0

*Ajustada para completar 100% da formulação; F: formulação; Fonte: Própria autoria.

Tabela 2 – Valores utilizados no DCCR para produção dos *fishburgers* de CMS de lambari rosa no Estudo 2

Fatores	Valores de cada nível de fatores				
	-1,41 (-α)	-1	0	1	1,41 (+α)
Proteína Isolada de Soja (PIS)	0	0,44	1,5	2,56	3,0
Transglutaminase Microbiana (MTGase)	0	0,22	0,75	1,28	1,5

Fonte: Própria autoria.

Tabela 3 – Matriz do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para elaboração das formulações de *fishburger* de CMS de lambari rosa

Ensaio	Código	Valores codificados		Valores decodificados ¹	
		PIS	MTGase	PIS	MTGase
1 (fatorial)	E1	-1,0	-1,0	0,44	0,22
2 (fatorial)	E2	-1,0	1,0	0,44	1,28
3 (fatorial)	E3	1,0	-1,0	2,56	0,22
4 (fatorial)	E4	1,0	1,0	2,56	1,28
Ponto central 5	PC5	0,0	0,0	1,50	0,75
Ponto central 6	PC6	0,0	0,0	1,50	0,75
Ponto central 7	PC7	0,0	0,0	1,50	0,75
Axial 8	A8	0,0	-1,4	1,50	0,00
Axial 9	A9	0,0	1,4	1,50	1,50
Axial 10	A10	-1,4	0,0	0,00	0,75
Axial 11	A11	1,4	0,0	3,00	0,75
Controle 1	C1			3,00	0,0
Controle 2	C2			3,00	0,0
Controle 3	C3			3,00	0,0

¹Valores decodificados expressos em g/100. PIS: Proteína isolada de soja; MTGase: transglutaminase microbiana. Fonte: Própria autoria.

4.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS E FISHBURGERS

A análise de composição química básica e outras análises físico-químicas da matéria-prima e *fishburgers* foram realizadas em triplicata, nos Laboratórios de Qualidade e Estabilidade de Carne e Produtos Cárneos (LaQuECa), Laboratório de Aquicultura e Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP), exceto a análise do perfil de ácidos graxos que foi realizada por um laboratório externo à FZEA, como prestação de serviços. Nos itens a seguir são apresentadas as análises realizadas.

4.4.1 Determinação da composição química básica

A avaliação da composição química básica da matéria-prima e dos *fishburgers* de todos os ensaios foi realizada por meio das análises de umidade, cinzas, proteínas e lipídios. O lambari corpo limpo e as CMSs lavada e não lavada foram mantidas sob refrigeração até o momento de realização das análises. Os *fishburgers* foram retirados do congelamento e descongelados em refrigerador no dia anterior às análises, sendo analisados crus. A umidade foi determinada pelo método gravimétrico em estufa a 105°C, seguindo a metodologia de (HORWITZ, 1980); o teor de cinzas, segundo (AOAC, 1975), pelo método gravimétrico com incineração da matéria orgânica e com calcinação em mufla a 550°C; os lipídios foram determinados por extração a frio pelo método de (BLIGH; DYER, 1959); e o teor de proteína bruta foi determinada pelo método *Kjeldahl*, sendo multiplicado o resultado de nitrogênio total obtido por 6,25 para conversão em proteína.

4.4.2 Determinação do perfil de ácidos graxos do lambari rosa

Amostras liofilizadas de lambari rosa na forma de corpo limpo foram enviadas via correios para serem analisadas pelo Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas da Universidade Federal de Santa Catarina, em Florianópolis. O conteúdo lipídico foi determinado pelo método de Folch Lees & Stanley (1957), adaptado por Ways & Hanahan (1964). Os ácidos graxos foram determinados após transesterificação em ésteres metílicos de acordo com (O'FALLON et al., 2007). A composição dos ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa (Agilent 7890B, Santa Clara, Califórnia, USA) conforme descrito por Corrêa et al., (2017).

4.4.3 Determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis e pH

Foram realizadas análises de bases nitrogenadas voláteis (BNV) para caracterização da matéria-prima, desde o peixe corpo limpo até a CMS lavada, e pH, para CMS lavada e não lavada. Os teores de BNV em amostras do lambari

corpo limpo, CMS lavada e não lavada foram determinados pelo método de destilação das bases voláteis por arraste de vapor, conforme método descrito por (HOWGATE, 1976). A determinação do valor de pH da CMS foi realizada utilizando-se um pHgâmetro digital portátil marca Gehaka com sensor de penetração. A leitura foi realizada diretamente em amostra em três pontos distintos.

4.4.4 Avaliação instrumental de cor

A análise de cor foi realizada em amostras cruas e descongeladas de *fishburgers* de todos ensaios, em colorímetro Hunterlab Ultra-Scan, (Hunter Associates Laboratory, Reston, VA, EUA, Modelo SN7877), utilizando iluminante D65 e ângulo de observação de 10°. O equipamento foi ajustado para medir L^* , a^* , b^* - sistema de cores CIE- $L^*a^*b^*$ (L^* : luminosidade; a^* : vermelho/verde; b^* : amarelo/azul) Commission Internationale de D'Eclairage (1978), em três pontos distintos da amostra e cálculo das médias. Os resultados dos parâmetros a^* e b^* foram usados para calcular o Croma (C^*).

4.4.5 Avaliação instrumental da textura

Para a avaliação da textura do *fishburger* de lambari rosa foi utilizado analisador de textura, modelo TA.XT Plus, da *Stable Micro Systems*. Foi realizada análises de todos os ensaios, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA/ZEA), sendo aplicado o teste de compressão axial, em dois ciclos de compressão a 50%, seguindo a metodologia descrita por Bourne (2002). O equipamento foi configurado nas seguintes condições: velocidade pré-teste: 1,0 mm/s; velocidade teste: 2,0 mm/s; velocidade pós teste: 2,0 mm/s; 2,5 mm de distância de compressão da altura original com probe cilíndrico (P/35); força de contato de 5 g. Antes da realização dos testes, os *fishburgers* foram grelhados em chapa de teflon a 210°C, por 6 minutos, sendo 3 minutos para cada lado, e até atingir pelo menos 72 °C no centro geométrico do produto. Após atingirem a temperatura ambiente, foram feitos pequeno círculos com auxílio de

cilindro vazado, com aproximadamente 2 cm de diâmetro e 0,5 cm de espessura. Foram avaliados em triplicata de amostra os seguintes parâmetros: dureza, gomosidade, coesividade, elasticidade e mastigabilidade. Para o cálculo desses parâmetros, foi usado o *software Exponent Lite Express*.

4.4.6 Análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise de microscopia eletrônica de varredura foi aplicada em amostras dos ensaios E1, E2, E3, E4, PC5, A8, A9, A10, A11 e C. As amostras foram previamente liofilizadas (liofilizador LC 1500 – Terroni, São Carlos) por 48 horas, e analisadas em microscópio eletrônico de varredura (Hitachi TM3000, Japão). As amostras foram depositadas em fita dupla face condutora de carbono, sobre placa circular de alumínio, colocada em câmara sob vácuo e analisadas a uma tensão de aceleração de 15 kV.

4.4.7 Percentual de encolhimento

Para avaliação do percentual de encolhimento os *fishburgers* foram pesados, grelhados em chapa de teflon a 210°C, por 6 minutos, sendo 3 minutos para cada lado (2 min + 1 min), até atingir pelo menos 72 °C no centro geométrico do produto. O diâmetro dos *fishburgers* foi medido, com auxílio de paquímetro, antes e após a cocção, quando os mesmos atingiram a temperatura ambiente. Os resultados foram obtidos pela fórmula: % Encolhimento = $(\varnothing \text{ da amostra crua} - \varnothing \text{ da amostra cozida}) / \varnothing \text{ da amostra crua} \times 100$, conforme metodologia descrita por Pinto (2017). Todos os testes foram realizados em triplicata de amostra.

4.4.8 Perda de peso por cocção

Para avaliação da perda de peso por cocção, as amostras de *fishburgers* de todos os ensaios, e em triplicata, foram previamente pesadas e preparados conforme item 4.4.7 Após atingirem a temperatura ambiente, foram novamente

pesadas para o cálculo da perda de peso, conforme metodologia descrita por Pinto (2017).

4.5 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

No Laboratório de Engenharia de Bioprocessos, (LEB/ZEa), em capela de fluxo laminar, amostras de lambari corpo limpo, CMSs e dos *fishburgers* de quatro ensaios do planejamento experimental (E4, PC7 A9 e C1) foram previamente identificadas, pesadas em sacos estéreis próprios para microbiologia e acondicionados em *becker's*, sendo 10 g de cada amostra adicionados de água peptonada estéril até se completar 100 g, sendo esta diluição considerada a diluição 10^{-1} . O conteúdo do saco foi homogeneizado em *stomacher* por dois minutos, e a partir deste, preparadas diluições seriadas em tubos de ensaios contendo 9 mL de água peptonada esterilizada, homogeneizadas manualmente para posterior inoculação em placas de *Compact Dry*, que são placas acrílicas, prontas para uso, em que as colônias dos microrganismos adquirem colocação específica para cada grupo pesquisado conforme descrição a seguir.

Estafilococcus coagulase positiva – Alíquotas de 1 mL de várias diluições da amostra foram inoculadas nas placas Compact Dry X-AS (Certificado AOAC N°. 081001) da *Nissui Pharmaceutical*, e posteriormente incubadas invertidas a 35 ± 2 °C por 24 horas. Após esse período foi realizada a contagem de colônias esverdeadas, conforme recomendação do fabricante. Os resultados obtidos para corpo limpo e CMS foram comparados com a legislação vigente - RDC nº 60, de 23 de dezembro de 2019, que estabelece na alínea “a” – para pescados frescos, resfriados ou congelados 10^3 . Para os resultados dos *fishburgers* a mesma legislação foi verificada na alínea “c” - para produtos à base de carne moída ou picada (Hamburger), que estabelece 10^3 como contagem máxima permitida de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva.

Coliformes termotolerantes e totais – Alíquotas de 1 mL de várias diluições da amostra foram inoculadas nas placas *Compact Dry EC* (Certificado AOAC N°. 110402) da *Nissui Pharmaceutical*, e posteriormente incubadas invertidas a 35 ± 2 °C por 24 horas. Após esse período foi realizada a contagem de colônias vermelhas para coliformes totais, e azuis como indicativo de coliformes fecais, *E. coli*. Os resultados das matérias primas e dos *fishburgers* foram comparados com a legislação vigente – RDC nº 60, de 23 de dezembro de 2019, conforme alínea “a” e “c” que estabelece 5×10^2 como contagem máxima permitida para *E. coli*. A legislação não estabelece padrão para coliformes totais a 35°C.

Contagem de microrganismos psicrotrófilos – Alíquotas de 1 mL de várias diluições da amostra foram inoculadas nas placas *Compact Dry TC* (Certificado AOAC N°.010404), da *Nissui Pharmaceutical*, e posteriormente incubadas invertidas a 25 °C por 3 dias. Após esse período foi realizada a contagem de colônias vermelhas. A legislação nacional não estabelece padrões microbiológicos para esse tipo de microrganismos, sendo utilizada a norma da International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1986).

Determinação de *Salmonella spp.* – Para o preparo do meio de enriquecimento específico foi adicionado 43,5 g do meio EE Broth Mossel (HIMEDIA) em 1000 mL de água destilada, e agitou-se até a sua completa dissolução. Em seguida, a solução foi transferida para tubos estéreis e aquecidos em banho-maria a aproximadamente 100 °C por cerca de 30 minutos. Para o preparo da amostra foi adicionado 25 g de amostra e 225 mL do meio em sacos estéreis, homogeneizados em *stomacher* por dois minutos. Foi utilizada a solução pré-enriquecida para início da análise. O pré-enriquecimento consistiu em incubar tal diluição em estufa a 37 °C por 24 horas. Após esse período, alíquota de 0,1 mL da cultura enriquecida foi inoculada a 1 cm da borda das placas *Compact Dry SL* (Certificado AOAC N°.110401) *Nissui Pharmaceutical*, e paralelamente 1 mL de água esterilizada, e posteriormente as placas foram incubadas invertidas em estufa bacteriológica a 43 °C por 24 horas. Os resultados foram obtidos de forma qualitativa, confirmando a presença da *Salmonella* pelo aparecimento da coloração amarelada da placa. Os dados coletados, tanto para corpo limpo, CMS

quanto para os *fishburgers* foram comparados com a legislação vigente RDC nº 60, de 23 de dezembro de 2019, que estabelece ausência de salmonela em 25 g de amostra.

4.6 CARACTERIZAÇÃO DOS VOLÁTEIS VIA MICRO-EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPME) E CG/EM

A metodologia da análise cromatográfica foi realizada de acordo com Nosedá et al. (2012) com modificações. Para o preparo de amostras foram utilizados *fishburgers* de lambari (sem adição de fumaça líquida e com adição de fumaça líquida), ambos grelhados. Foram pesados aproximadamente $5,0 \pm 0,1$ gramas de *fishburgers* de lambari e colocados em frascos de vidro para *headspace* (HS) de 20 mL, posteriormente fechados com tampa de rosca de septo. O auto-amostrador foi um SPME CTC PAL (Agilent Technologies, Diegem, Bélgica) equipado com uma fibra revestida de 2 cm $\times$ 50/30 μ m de divinilbenzeno / carboxeno / polidimetilsiloxano; DVB/CAR/PDMS) (Supelco, Bellefonte, EUA). A fibra foi inserida através do septo para extração dos voláteis capturados por 30 min à $50 \pm 0,1^\circ\text{C}$ com agitação a 500 rpm. A dessorção ocorreu durante 10 min a 260°C no modo de injeção sem divisão (*splitless*).

A separação cromatográfica ocorreu em uma coluna a 100% difenil polisiloxano Rxi-1MS (30 m $\times$ 0,25 mm i.d. $\times$ 0,25 μ m d.f.; Restek, Bellefonte, Estados Unidos), e o gás Hélio como gás de arraste. A vazão de gás na coluna foi de 0,80 mL/min. A programação linear de temperatura do forno foi regulada de forma a se obter uma rampa iniciando em 40°C / 5 min, seguindo até 100°C a uma taxa de $5^\circ\text{C}/\text{min}$, depois até 150°C a $3^\circ\text{C}/\text{min}$, 200°C a $5^\circ\text{C}/\text{min}$ e 250°C a $5^\circ\text{C}/\text{min}$ mantendo-se nesta temperatura por 7 min.

A detecção dos compostos foi feita por um espectrômetro de massa (EM) (Modelo QP 2010 Plus, Shimadzu, Japan) acoplado ao cromatógrafo gasoso (CG). No espectrômetro de massas a ionização ocorreu por impacto eletrônico

com energia de ionização de 70 eV, operando no modo de varredura completa com uma faixa de massa entre 33 e 330 m/z.

As temperaturas de interface, fonte e quadrupolo foi de 270, 230 e 150°C, respectivamente. O processamento dos dados foi realizado pelo pacote de *software MSD Chemstation*, e a identificação do composto foi realizada na comparação de espectros com a Biblioteca do equipamento NIST 11, NIST 11S. Na identificação dos compostos empregou-se também a *NIST WebBook Online* e os resultados apresentados por Adams (2009).

Uma mistura padrão de n-Alcanos (Sigma-Aldrich C10-C40) foi utilizado para verificar o desempenho do sistema GC-MS e calcular o índice de retenção (IR) de cada composto na amostra. O padrão (1 µL) destes alcanos foi injetado no sistema GC-MS operando nas mesmas condições descritas para as amostras, e seus respectivos tempos de retenção foram usados como padrão externo de referência para o cálculo do IR, juntamente com os tempos de retenção de cada composto de interesse. O IR de cada componente foi calculado conforme a Equação 2.

$$KI = 100(N) + 100 \times \left[\frac{\log t'r(A) - \log t'r(N)}{\log t'r(n) - \log t'r(N)} \right] \quad (2)$$

Onde:

KI = Índice de Retenção de Kováts;

N = Número de carbono do n-alceno anterior ao analito;

t'r (A) = Tempo de retenção ajustado do analito A;

t'r (N) = Tempo de retenção ajustado do n-alceno com N carbono;

t'r (n) = Tempo de retenção ajustado do n-alceno com n carbonos (n = N+1);

4.7 ANÁLISE SENSORIAL DOS *FISHBURGERS*

A análise sensorial das amostras de *fishburger* de lambari rosa foi realizada no Laboratório Multiusuário de Análise Sensorial (LAMASA), em duas

sessões sensoriais, sendo avaliados 6 ensaios no primeiro dia (E2, E3, A8, A9 + 1 PC e 1 Controle), e outros 6 no dia seguinte (E1, E4, A10, A11 + 1 PC e 1 Controle). A análise foi realizada com 30 consumidores, recrutados entre alunos de pós-graduação, funcionários técnico-administrativos e docentes da FZEA. Tais testes sensoriais foram realizados em dezembro de 2020, e embora os casos de COVID-19 estivessem relativamente baixos, entre a primeira e segunda onda da pandemia, não foi possível realizar os testes com um número maior de avaliadores. Após o esclarecimento dos avaliadores sobre a pesquisa e obtenção dos consentimentos para participação na pesquisa através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), os consumidores avaliaram a maciez, suculência, gomosidade e mastigabilidade das amostras utilizando uma escala do ideal de 7 pontos, variando de “+3 - muito mais macia/suculenta/gomosa/difícil de mastigar que o ideal” a “-3 - muito menos macia/suculenta/gomosa/difícil de mastigar que o ideal”, e também avaliaram a aceitabilidade utilizando uma escala hedônica estruturada de 9 pontos variando entre “1 - detestei a 9 - adorei”. Para que os avaliadores soubessem avaliar os parâmetros relacionados à textura das amostras, cada um dos parâmetros foi descrito brevemente na ficha de avaliação. O preparo das amostras foi conforme descrito no item 4.4.7. A apresentação de amostras foi monádica, e cada consumidor recebeu cada amostra (servida em prato plástico branco) juntamente com a ficha de avaliação, água e biscoito *cream craker* para limpeza do palato entre a prova das amostras.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS OBTIDOS

No Estudos 1 os dados obtidos foram comparados por meio de análise de variância (ANOVA) para cada variável resposta, os efeitos causados pelos tratamentos foram considerados significativos quando $p < 0,05$ e o teste de *Tukey* foi utilizado para comparação entre médias.

No Estudo 2, em que foi utilizado um delineamento experimental do tipo DCCR, foi feita análise dos efeitos principais, com $p < 0,05$ de significância, por

meio de análise de variância com intuito de identificar o efeito das variáveis em cada resposta. No estudo do ajuste de um modelo aos pontos experimentais, análise de variância foi empregada a fim de determinar os coeficientes lineares, quadráticos e de interação, comparando o F_{tabelado} com $F_{\text{calculado}}$. O teste F possibilita averiguar a adequação das respostas obtidas aos modelos propostos. Os coeficientes de regressão constituintes dos modelos foram utilizados para gerar as superfícies de respostas, para modelo quadrático ou linhas de contorno para o modelo linear, quando os modelos foram significativos.

Adicionalmente, para comparação entre médias dos ensaios para todas as variáveis analisadas, verificou-se a homocedasticidade dos dados obtidos pelo Teste de Levene. Nos casos em que a falta de homocedasticidade foi significativa aplicou-se o Teste de Kruskal Wallis a $p < 0,05$, utilizado para dados não paramétricos; quando a homocedasticidade dos dados foi comprovada aplicou-se ANOVA e Teste de Tukey a $p < 0,05$. Para os dados obtidos na Análise Sensorial foi adicionalmente aplicada a Análise de Penalidades ou *Penalty Analysis* para determinar como cada parâmetro de textura avaliado afetou a Impressão global.

Os parâmetros analisados para os quais foi determinada diferença significativa entre ensaios foram selecionados para realização de Análise de Fatores Múltiplos (MFA), que permite a determinação de correlação entre os diversos parâmetros e a construção de gráficos para ilustrar a relação entre as variáveis resposta e os agrupamentos de amostras de *fishburgers* dos diferentes ensaios. A **Tabela 4** indica os testes estatísticos utilizados para cada parâmetro e a inclusão ou não do parâmetro na MFA.

O software STATISTICA versão 13.5 foi utilizado para realização de testes de homoscedasticidade de variâncias, ANOVAS, testes de média e análise da metodologia de superfície de resposta. A Análise de Fatores Múltiplos e a Análise de Penalidades foram realizadas utilizando-se o software XL-STAT, versão 2019.3.1.

Tabela 4 – Valores de significância determinados no Teste de Levene para homoscedasticidade de variâncias e teste estatístico utilizado para cada parâmetro avaliado, e indicação de inclusão ou não na Análise de Fatores Múltiplos (MFA)

PARÂMETRO	Teste de Levene - Valor p	Teste Estatístico Valor p	Inclusão na MFA	
Umidade	0,0116	Kruskal Wallis	0,0006	Não
Lipídios	0,0022	Kruskal Wallis	0,0016	Não
Cinzas	0,0954	ANOVA	0,0000	Não
Proteínas	0,1053	ANOVA	0,0199	Não
BNV	0,0442	Kruskal Wallis	0,0396	Não
Sensorial - Maciez	0,3660	ANOVA	0,0031	Sim
Sensorial - Suculência	0,3946	ANOVA	0,0003	Sim
Sensorial - Gomosidade	0,1084	ANOVA	0,7266	Não
Sensorial - Mastigabilidade	0,0167	Kruskall Wallis	0,0471	Sim
Sensorial - Aceitação	0,0262	Kruskall Wallis	0,0043	Sim
Textura - Dureza	0,3376	ANOVA	0,0000	Sim
Textura - Gomosidade	0,3820	ANOVA	0,0000	Sim
Textura - Coesividade	0,0973	ANOVA	0,0000	Sim
Textura - Elasticidade	0,4200	ANOVA	0,0000	Sim
Textura - Mastigabilidade	0,1088	ANOVA	0,0000	Sim
L*	0,0306	Kruskall Wallis	0,0244	Não
a*	0,0396	Kruskall Wallis	0,0080	Não
b*	0,0915	ANOVA	0,0005	Não
Croma*	0,0942	ANOVA	0,0007	Sim
% de encolhimento	0,0371	Kruskall Wallis	0,0038	Sim
% de perda de peso por cocção	0,0429	Kruskall Wallis	0,0507	Não

Fonte: própria autoria.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO 1

Neste estudo, realizado como pré-teste para avaliar do uso da enzima transglutaminase microbiana (MTGase) e verificar se haveria maior aceitação do produto pela adição da fumaça líquida, foram avaliados os tratamentos conforme descritos na **Tabela 1** e obteve-se resultados que serviram de base para fundamentar o Estudo 2. A formulação controle, F9, com percentuais de 3,5% de proteína isolada de soja (PIS) e 2,5% de amido foi avaliada sensorialmente em estudos prévios com *fishburgers* de lambari-do-rabo-amarelo e sua textura não foi considerada ideal, sendo sensorialmente classificada por alguns avaliadores como “borrachenta”. Deste modo, o Estudo 1 foi realizado com diferentes percentuais de MTGase e diminuição ou retirada total da PIS e amido com o objetivo inicial de se avaliar os efeitos sobre os parâmetros de textura.

5.1.1 Rendimento da matéria-prima (%)

O cálculo dos rendimentos foi elaborado desde o peixe inteiro até a CMS lavada. Os resultados obtidos estão apresentados na **Tabela 5**.

Tabela 5 – Rendimento global do lambari rosa em cada etapa do processo

Produto	Peso (kg)	Rendimento (%)
<i>Lambari inteiro (lote)</i>	11,289	-
<i>Lambari eviscerado (sem escamas e sem vísceras)</i>	9,934	88,00
<i>Lambari após descabeçamento</i>	6,346	56,21
<i>Lambari após desossadeira (CMS)</i>	5,297	46,92
<i>CMS após lavagem</i>	4,148	36,74

Fonte: Própria autoria.

Estudando CMS de manjuba (*Anchoviela lepidontostole*), Simbine et al. (2021) obtiveram um rendimento superior ao encontrado nessa pesquisa,

50,16%, para CMS lavada. Kirschnik et al. (2013) obtiveram rendimento superior ao encontrado nesse estudo para carcaças de tilápia do Nilo, 57,7%, e após o processo de lavagem, 84,7% em relação à CMS não lavada, bem como Bernardino-Filho & Almeida Xavier (2019), que alcançaram rendimento superior ao encontrado nesse estudo, 76,25%, trabalhando com CMS produzida a partir de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo

5.1.2 Caracterização da matéria-prima

Por meio dos métodos de análises físico-químicas avaliou-se a composição química básica e o grau de frescor do lambari rosa e da CMS produzida. Os resultados obtidos para composição química da matéria-prima (umidade, proteínas, lipídios e cinzas) do Lambari corpo limpo (P), CMS, Resíduo (R) e CMS Lavada (CMS L), estão apresentados na **Tabela 6**.

Tabela 6 – Composição química básica (%) de lambari rosa - corpo limpo (P), carne mecanicamente separada (CMS), resíduo (R) e carne mecanicamente separada lavada (CMS L)

Parâmetro	P	CMS	R	CMS L	Valor (p)
Umidade	79,75 ± 0,16 ^c	81,45±0,10 ^b	60,59 ±0,57 ^d	86,89±0,09 ^a	<0,0001
Proteína BU	14,10 ± 0,45 ^b	13,76±0,15 ^b	17,72 ±0,16 ^a	9,27 ± 0,59 ^c	<0,0001
Lipídios BU	1,86 ± 0,08 ^a	2,58 ± 0,86 ^a	3,11 ± 0,59 ^a	1,94 ± 0,37 ^a	0,079
Cinzas BU	2,26 ± 0,00 ^b	1,20 ± 0,01 ^c	16,02 ± 0,5 ^a	0,84 ± 0,02 ^c	<0,0001
N-BVT	9,15 ± 1,0 ^a	10,54±0,68 ^a	6,79 ± 0,22 ^b	2,59 ± 0,5 ^c	<0,0005

Médias (n=3) na mesma linha, seguidas de letras distintas indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey. BU – base úmida. Fonte: Própria autoria.

De acordo com a tabela de composição dos alimentos (TACO, 2011), o lambari corpo limpo *in natura* apresenta teores de 72,2% de umidade, 15,7% de proteínas, 9,4% de lipídios, e 2,2% de matéria mineral. Os resultados obtidos estão próximos ao da referida literatura, porém variações podem ocorrer devido ao fato de que a composição dos peixes depende do sexo, idade, alimentação, época do ano em que foi capturado, tamanho, temperatura da água e local de captura (BADOLATO et al. 1994; ARMSTRONG, LEACH, WYLLE, 1991).

Observa-se que a CMS lavada apresenta a maior porcentagem de umidade uma vez que a lavagem faz com que a água se agregue ao produto. Resultados próximos aos encontrados nesse estudo foram relatados por Souza et al. (2019) em estudo de *fishburger* com lambari-do-rabo-amarelo. O resíduo da CMS apresentou o maior teor de proteínas (17,72%) e de cinzas (16,02%), sendo constituído principalmente por pele e espinhos. A CMS lavada apresentou os menores teores de proteínas, cinzas e bases voláteis, o que pode ser explicado pelo processo de lavagem que proporciona lixiviação dos compostos como proteínas sarcoplasmáticas, lipídios, pigmentos e enzimas (NEIVA, 2021), mas principalmente pelo elevado teor de umidade, que consequentemente diminui as percentagens dos outros componentes da matéria-prima.

Os valores de proteínas, lipídios, cinzas e N-BVT reduziram com o processo de lavagem da CMS, favorecendo a estabilidade dos produtos desenvolvidos, uma vez que a lavagem retira componentes solúveis que favorecem a oxidação lipídica e a degradação proteica (TENUTA-FILHO, 2003). O mesmo foi observado em estudos com CMS de tilápia do Nilo (KIRSCHNIK; MACEDO-VIEGAS, 2009; KIRSCHNIK et al., 2013) e por Fogaça et al. (2015) com surimi obtido a partir de CMS de tilápia do Nilo.

5.1.3 Análise instrumental de textura dos *fishburgers* grelhados

Os dados obtidos em relação perfil de textura apresentaram diferença estatística significativa nos diversos parâmetros analisados (**Tabela 7**).

Para o parâmetro Dureza, observou-se uma tendência para os tratamentos com maiores percentagens de MTGase (F8, F7 e F6) com 0,7% MTGase e F2 e F5 com 0,5% MTGase apresentarem valores maiores, sendo estatisticamente iguais, indicando que neste caso, o ingrediente que mais contribuiu para a Dureza foi a MTGase. Considerando isso, é importante ressaltar que os resultados indicaram a ocorrência de algum problema na formulação 3 – devido a algum erro no processo de formulação, grelhamento do *fishburger* ou na própria análise de textura, visto que esse tratamento também foi adicionado de 0,7 de MTGase e, portanto, seria coerente que apresentasse

também elevado valor de Dureza. Os tratamentos F6, F2 e F5 não apresentaram diferença significativa. Os tratamentos F2 (0% PIS + 0,5% MTGase) e F5 (1% PIS + 0,5% MTGase) indicaram que a proteína isolada de soja não interferiu no parâmetro Dureza dos *fishburgers*. No tratamento controle F9 (3,5% PIS, 2,5% Amido e 0% MTGase), verifica-se uma das formulações com menor Dureza, assim como as formulações F3 e F4. Os únicos tratamentos que diferiram do *fishburger* controle foram as formulações F7 e F8 com 0,7% de MTGase. Nota-se que a concentração de MTGase é diretamente proporcional à Dureza, o que está de acordo com os resultados obtidos por Suhnel (2007) e Pinto (2017) em suas pesquisas com reestruturados e *fishburger* de tilápia do Nilo adicionados de transglutaminase microbiana.

Para o parâmetro Coesividade, de modo geral houve pouca discriminação das amostras (**Tabela 7**). O tratamento F4 apresentou maior Coesividade e diferiu de todos os tratamentos exceto de F3. Novamente F3 apresenta valor absoluto diferente das outras formulações que contém 0,7% de MTGase (embora sem diferença significativa entre elas), o que reforça a hipótese de erro durante o processo de formulação ou na análise. Diferentemente dos resultados obtidos nesse estudo, Sühnel (2007) encontrou valores em que a Coesividade aumentava com a concentração da enzima MTGase. Pinto (2017) não obteve diferença estatística entre as médias de Coesividade de diferentes formulações de *fishburger* de tilápia do Nilo, o que se relaciona com os resultados obtidos no presente estudo, uma vez que a maioria das médias não apresentou diferença estatística significativa.

No parâmetro Gomosidade, assim como ocorreu com a Dureza, os tratamentos F4 e F8 encontravam-se em extremos opostos; F4 mostrou-se com menor Gomosidade e F8 com maior Gomosidade. Observa-se que houve um aumento da Gomosidade com o aumento da concentração de MTGase (**Tabela 7**).

Em relação à Mastigabilidade a formulação F8 foi a que apresentou maior quantidade de trabalho necessário para mastigar o *fishburger*, seguida da formulação F7, ambos com percentual de 0,7% de MTGase na formulação. A

formulação F4 (1% PIS + 0,3% MTGase) foi a que apresentou menor Mastigabilidade, sendo observado uma tendência de quanto maior a concentração de MTGase maior a Mastigabilidade, ou seja, maiores concentrações de transglutaminase microbiana produzem *fishburgers* que exigem maior quantidade de trabalho no processo de mastigação. O resultado acompanhou quase totalmente o resultado da Dureza.

As médias obtidas de elasticidade diferiram entre si ($p < 0,05$) (**Tabela 7**). O tratamento que obteve maior elasticidade foi o F4. Já os menores valores de elasticidade foram observados nas formulações F6, F7, F8, F1 e F9, as quais não diferiram estatisticamente entre si. Houve pouca discriminação das amostras neste parâmetro de textura, além disso, o sequenciamento das amostras tornou difícil verificar qual elemento da formulação influenciou nos resultados deste parâmetro.

Tabela 7 – Valores de Dureza, Gomosidade, Coesividade, Elasticidade e Mastigabilidade obtidos na análise de perfil de textura de *fishburgers* de CMS de lambari rosa grelhados, elaborados com diferentes concentrações de proteína isolada de soja (PIS), transglutaminase microbiana (MTGase) e Amido (A)

ENSAIO	PIS + MTGase + A (%)	DUREZA (Kgf)	GOMOSIDADE (J)	COESIVIDADE *	ELASTICIDADE (mm)	MASTIGABILIDADE (Kgf)
F1	0,0 + 0,3 + 2,5	4048,60 ± 746,81 ^b	2869,902 ± 598,39 ^{cde}	0,71 ± 0,02 ^b	0,287 ± 0,008 ^b	2296,449 ± 620,732 ^{bcd}
F2	0,0 + 0,5 + 2,5	5077,62 ± 572,44 ^{ab}	3597,343 ± 430,725 ^{abc}	0,708 ± 0,008 ^b	0,31 ± 0,01 ^{ab}	2931,113 ± 305,718 ^{abc}
F3	0,0 + 0,7 + 2,5	3322,97 ± 838,96 ^{bc}	2403,177 ± 563,763 ^{def}	0,726 ± 0,02 ^{ab}	0,31 ± 0,02 ^a	1983,203 ± 400,172 ^{cde}
F4	1,0 + 0,3 + 2,5	1891,162 ± 571,93 ^c	1507,599 ± 365,242 ^f	0,81 ± 0,07 ^a	0,37 ± 0,04 ^{ab}	976,925 ± 478,079 ^e
F5	1,0 + 0,5 + 2,5	4829,324 ± 1355,54 ^{ab}	3302,771 ± 662,345 ^{bcd}	0,70 ± 0,07 ^b	0,32 ± 0,06 ^b	2412,366 ± 800,826 ^{abcd}
F6	1,0 + 0,7 + 2,5	5434,435 ± 204,180 ^{ab}	3546,744 ± 55,522 ^{abcd}	0,691 ± 0,02 ^b	0,30 ± 0,01 ^b	2920,909 ± 41,180 ^{abc}
F7*	1,0 + 0,7 + 1,0	6237,878 ± 90,94 ^a	4229,527 ± 46,262 ^{ab}	0,678 ± 0,003 ^b	0,292 ± 0,004 ^b	3278,810 ± 189,120 ^{ab}
F8*	1,0 + 0,7 + 0,0	6668,236 ± 411,697 ^a	4592,626 ± 246,884 ^a	0,689 ± 0,006 ^b	0,29 ± 0,01 ^b	3582,222 ± 152,614 ^a
CONTROLE	3,5 + 0,0 + 2,5	3377,039 ± 332,235 ^{bc}	2119,821 ± 68,601 ^{ef}	0,68 ± 0,02 ^b	0,243 ± 0,003 ^b	1637,653 ± 92,804 ^{de}

A – amido; % - percentual; Kgf – quilograma-força; J – Joule; *adimensional; mm – milímetro; média + desvio padrão, (n≥3). Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna demostra diferença significativa pelo teste de Tukey (p<0,05). *As formulações F7 e F8 continham fumaça líquida; Fonte: Própria autoria.

5.1.4 Caracterização dos voláteis via micro-extração em fase sólida (SPME) e CG/EM

Foram realizadas análises dos voláteis presentes nos *fishburgers* processados com e sem adição da fumaça líquida, tratamentos F1 (sem fumaça líquida na formulação) e F8 (com fumaça líquida), além da composição volátil da própria fumaça líquida.

O cromatograma de íons totais (CIT) da fumaça líquida está apresentado na **Figura 4**. Pode-se observar na **Figura 5**, ampliada para melhor visualização da separação dos compostos, que, inicialmente, os componentes voláteis saíram com bandas largas e mal definidas, o que compromete a identificação dos mesmos. O mesmo ocorreu nos dois tratamentos, F1 e F8, e fumaça líquida, sendo possível visualizar essa má separação inicial na **Figura 6**, onde estão os comparativos dos três cromatogramas dos produtos analisados.

De forma geral, pode-se observar no APÊNDICE II que são muitos os compostos presentes na fumaça líquida, considerando os 65 picos identificados no quadro. Cada pico do CIT é apresentado com seu respectivo tempo de retenção (TR) e identificação. As identificações foram feitas por comparação dos espectros de massas (MS) com a biblioteca NIST 11 e NIST 11s e pelo índice de retenção (IR) calculado (equação 2).

A fumaça líquida contém compostos fenólicos, que são os principais compostos responsáveis pelas características de flavorizante do extrato pirolenhoso (fumaça líquida). Segundo o fabricante, (AGTTEC, 2011), compostos como fenol, fenol,3-metil, fenol,3-etil, fenol,2,3-dimetil, fenol,2-metoxi-4-metil, fenol,2,6-dimetoxi, fenol,4-etil-2-metoxi e fenol,2,6-dimetoxi, são encontrados nesse aditivo.

Da **Figura 6**, que contém os três cromatogramas, ampliou-se os trechos entre os tempos de retenção de 11 a 21 min e de 26 a 33 min, enumerando picos para destacar os compostos presentes nos três CIT's. Vale destacar que, na região entre o tempo de retenção 13 e 21 minutos foi onde houve a melhor separação dos compostos voláteis. Na **Tabela 8** estão apresentados os picos e seus respectivos compostos identificados.

Figura 4 – Cromatograma completo dos Íons Totais (CIT) da fumaça líquida

Figura 5 – Ampliação do Cromatograma de Íons Totais da fumaça líquida - 5 a 20 min.

Imagens obtidas do Software GCMS Solution Real Times. Fonte: Própria autoria.

Figura 6 – Cromatograma completo de íons totais (CIT) da fumaça líquida (preto), F1 (ROSA) e F8 (AZUL), ampliado de 11 a 21 min e de 26 a 33 min.

Imagens obtidas de Software GCMS Solution Real Times. Fonte: Própria autoria.

Tabela 8 – Compostos voláteis identificados pelos tempos de retenção obtidos no cromatograma completo dos íons totais da fumaça líquida e dos *fishburgers*.

<i>Pico</i>	<i>TR (min)</i>	<i>Composto*</i>	<i>Fórmula Molecular</i>
1	11.425	Não Identificado	-
2	13.258	Limoneno	C ₁₀ H ₁₆
3	13.800	Fenol, 2-metil	C ₇ H ₈ O
4	14.208	Terpineno	C ₁₀ H ₁₆
5	14.542	Fenol, 2-methoxy-	C ₇ H ₈ O ₂
6	15.242	Cyclotrisiloxane, hexamethyl - Sílica	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃
7	15.375	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O
8	16.693	Fenol, 2,3-dimetil-	C ₈ H ₁₀ O
9	17.675	Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O
10	17.858	Fenol, 2-metoxi, 4-metil	C ₈ H ₁₀ O ₂
11	18.333	Cyclotrisiloxane, hexamethyl - Sílica	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃
12	20.717	Fenol, 4-etil-2-metoxi-	C ₉ H ₁₂ O ₂
13	26.402	Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄
14	29.430	Hidroxitoluene butilado	C ₁₅ H ₂₄ O
15	31.508	Ftalato de dibutilo	C ₁₅ H ₂₄ O

TR – Tempo de retenção; *Os compostos destacados em negrito na tabela estão relacionados a presença da fumaça líquida na formulação. Fonte: Própria autoria

O aroma e sabor de um alimento se devem à presença de uma série de compostos voláteis, percebidos por meio do olfato, e não voláteis, percebidos durante a degustação. A quantificação de tais compostos pode permitir inferir os motivos de um produto em desenvolvimento ser bem aceito por consumidores ou não. A micro-extração em fase sólida (SPME) é um método de extração eficiente que integra amostragem, isolamento e enriquecimento em uma única etapa, permitindo a determinação quantitativa de compostos em uma ampla variedade de matrizes (ARTHUR; PAWLISZYN, 1990; WANG et al., 2011).

Ao comparar os CIT da fumaça líquida (em preto) com o CIT dos tratamentos F1 - sem adição de fumaça (em rosa) e F8 - com adição de fumaça (em azul), nota-se que, embora o aroma do produto tenha sido sensorialmente potencializado pela adição da fumaça líquida, os picos predominantes continuam sendo aqueles característicos do produto formulado.

Os picos em destaque da **Tabela 8** são aqueles em que os compostos aparecem apenas no CIT da formulação 8 e fumaça líquida, comprovando a presença do composto fenólico característico da fumaça na formulação.

No pico 1, embora o composto tenha aparecido com prevalência nas duas formulações, ele aparece em bandas muito largas, o que dificulta a identificação real do composto. O limoneno, que aparece como maior pico nos CITs da formulação F1 e F8, também foi encontrado por Duflos et al. (2010) ao analisar o frescor do badejo (*Merlangius merlangus*) e por Wang et al. (2017) ao estudar o potencial de deterioração de diferentes bactérias em filés de carpa capim (*Ctenopharyngodon idellus*).

O Terpineno, composto do pico 4, é um antioxidante utilizado como agente aromatizante em alimentos, que pode estar relacionado aos ingredientes da formulação. O composto terpineol, pico 9, também pode estar relacionado com os ingredientes da formulação, uma vez que os mesmos apresentam propriedades antioxidante e antibacteriana.

O composto aromático nonanal, pico 7, também foi encontrado por Iglesias et al. (2009), Duflos et al. (2010), Parlapani et al. (2017) e Wang et al. (2017) em estudos de voláteis com pescado, caracterizado como aromático natural de pescado.

Na **Figura 6**, nota-se a distinção dos picos 13, 14 e 15 com os tempos de retenção mais elevados, acima de 25 min. O pico 13 que tem como composto o cariofileno, caracteriza um dos condimentos do *fishburger*, uma vez que este composto é encontrado na pimenta, ingrediente presente nas duas formulações. O pico 14, que também aparece apenas nos CIT das duas formulações é o hidroxitoluene butilado (BHT), antioxidante usado como aditivo alimentar, que pode estar ligado aos compostos antioxidantes naturalmente presentes nos condimentos usados nas duas formulações.

Os picos 6 e 11 foram identificados como compostos de sílica, o que pode estar ligado à coluna ou mesmo à fibra de injeção. O último pico, 15, é o ftalato de dibutilo, que apesar de ter aparecido em uma grande área e nos três CITs, suspeita-se que esteja ligado a impurezas da fibra de injeção, uma vez que

em todas as corridas das formulações e no CIT dos alcanos (**Figura 7**), ele aparece sempre no mesmo tempo de retenção (31.508).

Figura 7 – Cromatograma da solução padrão de alcanos (C10-C40)

Imagens obtidas de *Software GCMS Solution Real Times*. Fonte: Própria autoria.

5.2 ESTUDO 2

MATÉRIA-PRIMA

5.2.1 Rendimento da matéria-prima

O cálculo dos rendimentos foi elaborado desde o peixe inteiro até a CMS não lavada. Os resultados obtidos para o rendimento global estão apresentados na **Tabela 9**.

Tabela 9 – Rendimento global para o lote de lambari rosa

Produto	Peso (kg)	Rendimento (%)
Lambari inteiro	40,80	-
Lambari s/ escamas e s/ vísceras	38,35	94,00
Lambari descabeçado	27,11	66,46
Lambari após desossa mecânica (CMS)	23,15	56,74

Fonte: própria autoria.

Para o rendimento global, após a retirada de escamas, vísceras e descabeçamento, observou-se um rendimento de 66,46% em relação ao peixe inteiro (**Tabela 9**). A partir dos 27,11 kg de corpo limpo de lambari rosa foram obtidos 23,15 kg de CMS, representando um rendimento de 85,4% na etapa ou de 56,74% quando comparado ao peso dos peixes inteiros.

Sary et al. (2009) trabalhando com carne mecanicamente separada de tilápia encontraram rendimento próximo ao encontrado nesse estudo, 57%, o mesmo também fora encontrado por Kirschnik et al. (2013a) para carcaças de tilápia. Kirschnik & Macedo-Viegas (2009) encontraram valores de 46,9% em relação ao peixe inteiro, e 78,6% em relação ao peixe eviscerado e descabeçado, sendo abaixo do encontrado nessa pesquisa. Bernardino Filho & Almeida Xavier (2019) obtiveram rendimento superior ao encontrado nesse

estudo, 76,25%, trabalhando com CMS produzida a partir de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo.

Segundo Neiva (2021) genericamente, o rendimento da CMS de pescado varia entre 52 a 72% a partir do peixe descabeçado e eviscerado. Assim, o rendimento encontrado nesse trabalho mostra como o processo de desossa mecânica pela separadora do tipo rosca-sem-fim é eficiente na obtenção de carne de peixes de pequeno porte como o lambari.

5.2.2 Caracterização da matéria-prima

Composição química básica

Verificou-se que a composição da CMS de lambari difere da composição do corpo limpo (**Tabela 10**). Percebe-se que houve um aumento na umidade da CMS lavada quando comparado ao lambari corpo limpo. Isso pode ter ocorrido porque no processo de lavagem há uma remoção das proteínas hidrossolúveis ou sarcoplasmáticas, lipídios e outros compostos indesejáveis como sangue e pimentos, resultando assim em perda de sólidos e num aumento de retenção de água devido à alta concentração de proteínas miofibrilares presentes na CMS de pescado (NEIVA, 2021). Esse aumento da umidade também foi observado por Sary et al. (2009), que avaliaram a influência da lavagem da CMS na composição e aceitação de produtos em dois lotes de CMS de tilápia, encontrando valores de 81,67% e 80,29%; e por Pinto (2017), que observou o valor de 82,54% para CMS obtida a partir de resíduos da filetagem de tilápia. De acordo com Contreras-Gusmán (1994a) a composição química do lambari-do-rabo-vermelho é 81,3% de umidade, 12,8% de proteínas, 5,2% de lipídios e 0,8% de cinzas, valores próximos aos encontrados na presente pesquisa para lambari rosa.

No parâmetro cinzas, verificou-se uma perda de 46% após a lavagem da CMS quando comparado ao teor inicial para corpo limpo, revelando diferença estatística entre eles. Kirschnik et al. (2013) também observaram em seu estudo uma redução próxima à encontrada no presente estudo, de 40,5%, após a

lavagem da CMS de carcaça de tilápia do Nilo, que passou de 1,1% para 0,66% de cinzas. O mesmo percentual de cinzas encontrado nesse estudo para CMS lavada, 0,8%, foram observados por Costa et al. (2017), enquanto Marengoni et al. (2009) detectaram 0,88% de matéria mineral em CMS não lavada de tilápia, superior ao dessa pesquisa. Pinto (2017) obteve valor muito próximo ao encontrado nesse estudo para CMS não lavada, 0,77%. Segundo Contreras-Gusmán (1994a), os teores de cinzas dos peixes de água doce podem variar de 0,80 a 3,29%, sendo ainda esse percentual afetado quando se realiza lavagens na CMS, o que provoca a lixiviação de minerais.

Tabela 10 – Composição química básica, valores de pH e bases nitrogenadas voláteis em corpo limpo e carne mecanicamente separada não lavada (CMS) e lavada (CMS L) de lambari rosa

Parâmetro	Produto analisado		
	Corpo Limpo	CMS	CMS L
Umidade (%)	80,48 ± 0,18 ^a	83,59 ± 0,09 ^b	83,43 ± 0,07 ^b
Cinzas (%)	1,72 ± 0,01 ^a	0,74 ± 0,02 ^b	0,80 ± 0,01 ^b
Proteínas (%)	13,65 ± 0,05 ^a	12,62 ± 0,48 ^b	13,22 ± 0,22 ^b
Lipídios (%)	3,62 ± 0,07 ^b	4,25 ± 0,31 ^a	1,88 ± 0,34 ^c
pH	NR	6,80 ± 0,01	6,42 ± 0,02
BNV (mg/100g)	6,50 ± 0,35 ^a	4,38 ± 0,39 ^b	1,85 ± 1,23 ^c

Resultados expressos em média ± desvio padrão, (n=3). Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha demonstram diferença significativa pelo teste de Tukey $p < 0,05$. NR: não realizado. Fonte: Própria autoria.

Estudos publicados relacionados à composição química básica de CMS obtida de lambari não foram encontrados, enquanto, por outro lado, são vários os estudos relacionados a CMS obtida de tilápia, alguns dos quais são referenciados a seguir, a título de comparação com a CMS de lambari. Os valores de umidade encontrados nesse estudo ficaram próximos aos encontrados por Pinto (2017) para CMS de tilápia, 82%, e por Signor (2018), 84,78%. Fogaça et al. (2015) trabalhando com surimi obtido a partir de CMS de tilápia nilótica obtiveram valores de umidade de 73,87%, bem como Bernardino Filho & Almeida Xavier (2019) estudando a caracterização de CMS de tilápia do Nilo, detectaram 75,08% de umidade, abaixo do encontrado na presente pesquisa. Para CMS lavada, o percentual de umidade ficou abaixo do valor de 88% encontrado por Kirschnik e Macedo-Viegas (2009) para CMS lavada de

tilápia do Nilo, e por Costa et al. (2017) para CMS de tilápia obtida a partir de carcaça e refilé, com valores de 85% e 85,2%, respectivamente.

Para as proteínas, observou-se uma redução de 0,43% entre o teor de proteína do lambari corpo limpo e CMS lavada, tendo sido obtidos valores de 12,62% para CMS in natura, e 13,22% para CMS lavada. Apesar de não existir legislação própria para carne mecanicamente separada de pescado, o resultado dessa pesquisa está de acordo com a referência de conteúdo mínimo de proteínas preconizado pela legislação para CMS de aves, bovino e suínos (BRASIL, 2000b) que é de 12%. Bernadino Filho & Almeida Xavier (2019) estudando a obtenção e caracterização de CMS de tilápia do Nilo também obtiveram resultado muito próximo ao encontrado nesse estudo para CMS não lavada, 12,46%, e Costa (2017) obteve o valor de 12,5% para CMS de carcaça não lavada de tilápia. Outros autores também relataram valores de proteínas próximos ou maiores que o encontrado nesse trabalho para CMS lavada de tilápia nilótica, tais como 13,02% (SARY et al., 2009), 21,1% (COSTA; GONÇALVES; CONTI-SILVA, 2019), 15,49% (PINTO, 2017), 15,87% (FOGAÇA et al., 2015), 12,02% (KIRSCHNIK et al., 2013a) e 13,66% (MINOZZO, 2010). Em estudos pioneiros com peixes de água doce no Sudeste, Moraes et al. (1984) citam que o teor de proteínas no músculo tem uma queda bem definida entre agosto e setembro, tanto para machos quanto para fêmeas, o que indica que as proteínas podem ser utilizadas como fonte de energia para os peixes.

O percentual lipídico menor que 4%, classifica o lambari como um peixe com baixo teor de gordura no músculo (GONÇALVES et al., 2012). O processo de lavagem da CMS reduziu significativamente o teor de lipídios em 51,9%, fato também observado por Kirschnik e Macedo-Viegas, (2009) que obtiveram uma queda de 56% no teor de lipídios. Gonçalves et. al. (2012) pesquisando composição dos ácidos graxos em músculo de reprodutores de lambari do rabo amarelo, cultivado e selvagem, encontraram valores de lipídios de 3,69% e 3,39%, respectivamente, similares ao encontrado nesse estudo, 3,62%. Feiden et al. (2009) encontraram percentual próximo de lipídios para lambari do rabo vermelho (*Astyanax sp.*), 3,84%. Pinto (2017) ao avaliar o teor de lipídios em CMS lavada de tilápia do Nilo produzida no outono e na primavera, obteve

resultados de 2,2% e 0,84%, respectivamente, sendo o valor obtido no outono próximo ao resultado para CMS lavada, de 1,88%, detectado na presente pesquisa. Outros resultados de teor de lipídios observados para CMS não lavada de tilápia, oriundas de carcaças e/ou filetagem foram 0,96% (SARY et al., 2009), 6,27% (KIRSCHNIK et al., 2013a) e 10,63% (BERNADINO FILHO; ALMEIDA XAVIER, 2019), corroborando que, além de fatores como processo de lavagem, a estação do ano e tipos de resíduos processados também influenciam na composição da carne mecanicamente separada do pescado.

Contreras-Gusmán (1994a) afirma que a mudança na composição química do pescado comestível ocorre tanto em peixes de água doce quanto salgada, e Moraes et al. (1984) complementam que os mesmos sofrem influência constante do meio ambiente, da época do ano e da sua própria fisiologia - idade, parte do corpo, estágio gonadal, sendo essas mudanças evidenciadas em regiões com estações mais definidas. Comparando os percentuais lipídicos da CMS de lambari rosa com a legislação para CMS de aves, bovinos e suínos (BRASIL, 2000b), conclui-se que a CMS do presente estudo está de acordo, uma vez que o percentual máximo permitido é de 30%.

O pH obtido para CMS lavada foi de 6,42. A legislação para CMS de aves, bovinos e suínos (BRASIL, 2000b) não estabelece valores de pH. Contudo, o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 2017), limita a pH inferior a 7 para peixe fresco, estando esse resultado de acordo com a legislação vigente. Bernadino Filho & Almeida Xavier (2019) e Signor (2018) encontraram pH de 6,54 e 7,33 respectivamente, para CMS de tilápia do Nilo, superiores ao valor encontrado nesse estudo.

O processo de lavagem reduziu significativamente as substâncias solúveis presente na CMS, como que pode ser observado na **Tabela 10**, pela redução das bases nitrogenadas voláteis (BNV), de 6,5 mg/100g para 1,85 mg/100g. O mesmo foi observado por Kirschnik e Macedo-Viegas (2009) e Kirschnik et al. (2013b) com CMS de tilápia do Nilo, lavada e não lavada.

Os resultados indicaram que a CMS obtida se encontrava com alta qualidade, com valores próximos ao lambari corpo limpo, evidenciando o grande

potencial do lambari rosa para a produção de CMS e utilização na indústria para elaboração e diversificação de produtos à base de pescado.

Perfil dos ácidos graxos (AG) de lambari rosa

A composição dos ácidos graxos (AG) nos lipídios de lambari rosa corpo limpo está apresentada na **Tabela 11**. Dentre os ácidos graxos saturados (SFA), o Ácido Palmítico foi o mais expressivo, com 142,29 mgAG/g, o Oléico (OLA) com 203,81 mgAG/g para os monoinsaturados (MUFA) e o Linoléico (LOA) 84,74 mgAG/g para os poliinsaturados (PUFA) da família ômega-6.

Os mesmos ácidos graxos predominantes também foram observados em filés de truta arco-íris (DURMUS et al., 2020), em hambúrguer de CMS de carcaça de tilápia (COSTA, 2017), em hamburger com CMS lavada de bagre (BOCHI et al., 2008), em reprodutores de lambari-do-rabo-amarelo (GONÇALVES et al., 2012) e em diferentes tipos de dietas para lambari-do-rabo-amarelo (TAVARES, 2011).

Algumas espécies de peixes, principalmente aqueles com alto teor de lipídios, como certos peixes marinhos, apresentam maiores quantidades de ácidos graxos poliinsaturados n-3, como o ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5 n-3) e o docosahexaenóico (DHA, 22:6 n-3), ácidos graxos de cadeias mais longas (DURMUS et al., 2020). Os ácidos graxos das famílias n-3 e n-6 são obtidos por meio de dietas ou produzidos pelo organismo a partir da ação das enzimas em seus precursores, os ácidos linoléico (LOA) e alfa-linolênico (LNA) (MARTIN et al., 2006). Segundo Calder & Yaqoob (2009) a produção de EPA e DHA no organismo humano é ineficiente, sendo necessário a ingestão de alimentos ricos nessas substâncias, como algumas espécies de peixes e frutos do mar. Contudo, a forma de preparo em alimentos ricos em ômega-3 pode afetar sua biodisponibilidade e seu teor (MENEGASSI, 2011).

Tabela 11 – Valores médios de ácidos graxos de corpo limpo de lambari rosa liofilizado (n=2)

Ácidos Graxos	Sigla	mg AG/g de gordura	% Matéria seca
Capróico	C6:0	2,005	0,01
Caprílico	C8:0	0,325	0
Capríco	C10:0	0,705	0
Láurico	C12:0	0,995	0,005
Tridecanóico	C13:0	0,28	0
Mirístico	C14:0	10,685	0,05
Miristoléico	C14:1n5	0,565	0
Pentadecanóico	C15:0	3,22	0,02
Ácido Palmítico	C16:0	142,29	0,685
	C16:2n4	23,345	0,11
Heptadecanóico	C17:0	6,51	0,03
cis-10-Heptadecanóico	C17:1n7	1,425	0,01
Esteárico	C18:0	55,555	0,27
Oléico (OLA)	C18:1n9	203,81	0,985
	C18:1n7	26,77	0,13
	C16:3n4	1,02	0
Linoléico (LOA)	C18:2n6	84,74	0,41
cis-11-Eicosaenóico	C20:1n9	12,625	0,06
alfa-Linolênico (LNA)	C18:3n3	5,675	0,03
cis-11,14-Eicosadienóico	C20:2n6	2,965	0,01
cis-8,11,14-Eicosatrienóico	C20:3n6	4,93	0,02
Araquidônico	C20:4n6	13,255	0,065
cis-13,16-Docosadienóico	C22:2n6	6,485	0,03
Eicosapentaenóico (EPA)	C20:5n3	7,12	0,03
	C24:1n9	1,205	0,01
Nervônico	C22:4n6	5,465	0,03
Docosapentaenóico (DPA)	C22:5n3	4,425	0,02
Docosahexanóico (DHA)	C22:6n3	27,07	0,13
OUTROS		45,68	0,22

Fonte: própria autoria.

Huynh & Kitts (2009) citam que peixes de água salgada apresentam maiores quantidades de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (n-3), e que ao contrário, peixes de água doce são caracterizados por geralmente apresentar níveis mais altos de ácidos graxos poliinsaturados do tipo n-6. Os peixes são classificados como magros, e nestes casos geralmente armazenam gordura no fígado; ou como gordos, que armazenam gordura na carne. A principal função dos lipídios é o fornecimento de energia, e em geral, pescados

são boas fontes de ácidos graxos do tipo ômega-3 de cadeia muito longa (CALDER; YAQOOB, 2009). No entanto, a composição dos lipídios e ácidos graxos em peixes, de acordo com alguns fatores como sexo, ciclo reprodutor, tamanho, dieta e estado nutricional, varia entre as espécies (MENEGASSI, 2011). O perfil de ácidos graxos da carne dos peixes está relacionado com a composição em ácidos graxos dos lipídios presentes no alimento naturalmente obtido ou nas rações (MINOZZO, 2010). Em peixes provenientes da aquicultura, a quantidade de ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa (PUFA) dependerá do percentual disponível na ração oferecida durante o cultivo, refletindo no perfil dos ácidos graxos na dieta (MINOZZO, 2010; MENEGASSI, 2011).

Segundo Tavares (2011), o lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) apresenta boa capacidade de síntese dos ácidos graxos eicosapentaenóico e docosahexaenóico a partir do ácido α -linolênico, o que é confirmado por Gonçalves et al. (2012) em sua pesquisa.

Assim como no presente estudo, o ácido oléico também foi observado em maior quantidade no perfil lipídico do músculo de lambari cultivado (GONÇALVES et al., 2012), porém o valor obtido de 15,47 mgAG/g foi inferior ao encontrado nessa pesquisa, 203,81 mgAG/g. O ácido α -linolênico, considerado um AG essencial em peixes de água doce, estava em menor quantidade, 5,67 mgAG/g, sendo observado em valores ainda menores (0,23 mgAG/g) por Gonçalves et al. (2012) em músculo de lambari cultivado, e maiores, 34 mgAG/g, para músculo de tilápia (MENEGASSI, 2011). Mesmo não apresentando exigência nesse tipo de ácido graxo, a inclusão de óleos de peixes marinhos na fabricação da ração pode ser uma boa alternativa para produzir músculo mais enriquecido com ácidos graxos do tipo ômega-3 (MINOZZO, 2010). O ácido oléico traz grandes benefícios à saúde humana, evitando as doenças coronárias, e o linoleico e α -linolênico mantêm, sob condições normais, o bom funcionamento do sistema nervoso (MARTIN et al., 2006).

Gonçalves et al. (2012) constataram que os valores encontrados nos músculos de lambari cultivado para os ácidos araquidônico (C20:4n-6), eicosapentaenóico (C20:5n-3) e docosahexaenóico (C22:6n-3) eram superiores ao fornecidos na ração, inferindo a capacidade do lambari de alongar e

dessaturar ácidos precursores com cadeias de carbono mais curtas, tendo como resultados 1,44, 0,45 e 4,11 mg AG/g, respectivamente, e contrapondo aos valores mais altos encontrados nesse estudo, 13,04, 7,27 e 27,21 mg AG/g, respectivamente. O tempo de criação dos lambaris utilizados no presente estudo, de aproximadamente 10 meses, pode ser um dos fatores que permitiu um maior acúmulo desses AGs no músculo dos peixes. O ácido docosahexaenóico (DHA) e o ácido araquidônico são importantes no desenvolvimento do sistema nervoso central, e seu suprimento no início da vida é de vital importância, uma vez que nessa fase a maior parte das células cerebrais estão se formando (CALDER; YAQOOB, 2009).

Nesse estudo a soma dos ácidos graxos ômega-3 atinge 0,21% em matéria seca, e de ômega-6, 0,16%. Segundo Martin et al. (2006) a relação de ácido linoléico/ α -linolênico na dieta é importante porque esses ácidos competem com mesmas enzimas de dessaturação, e quando essa relação é elevada, ou seja, o ômega-6 maior que o ômega-3, a conversão do ácido α -linolênico à DHA pode ser inibida, ao contrário, inibirá a conversão do ácido linoléico à ácido araquidônico (MENEGASSI, 2011).

Embora a soma dos EPA + DHA de lambari rosa não atinja a recomendação da FAO para ingestão de alimentos ricos nesses compostos, que é 250mg/dia para adultos (FAO, 1994), o lambari não deixa de ser uma excelente fonte de gorduras boas na dieta humana.

5.2.3 Avaliação microbiológica da matéria-prima

A qualidade da matéria-prima utilizada para fabricação dos *fishburgers* foi avaliada tendo como referência os parâmetros oficiais brasileiros (BRASIL, 2019). Os resultados estão apresentados na **Tabela 12**. É possível constatar que ocorreu um aumento das contagens de microrganismos coliformes totais e psicotróficos no processo de desossa mecânica. Tal aumento foi inesperado considerando-se que todo o processamento foi realizado com boas práticas de fabricação, incluindo uma completa higienização da despulpadeira com detergentes próprios para equipamentos utilizados na fabricação de alimentos e

rígido controle para que a temperatura não se elevasse acima de 12°C. No entanto, foi inevitável um aumento da temperatura, que nos lambaris corpo limpo estava em torno de 1°C a 5°C, para o limite de 12°C, podendo ser este o fator que permitiu um aumento das contagens. Apesar do aumento das contagens desses grupos de microrganismos, tanto o lambari corpo limpo quanto a CMS permaneceram de acordo com os padrões microbiológicos, indicando que o processamento foi conduzido dentro dos padrões higiênico-sanitários adequados. Em consonância com os resultados encontrados nessa pesquisa estão os estudos de diversos autores que investigaram os padrões microbiológicos de CMS de tilapia do Nilo (FOGAÇA et al., 2015; COSTA et al., 2016; PINTO, 2017; YERLIKAYA et al., 2017; CALDAS et al., 2018; BERNADINO-FILHO & ALMEIDA XAVIER, 2019).

Tabela 12 – Avaliação microbiológica do corpo limpo e da carne mecanicamente separada (CMS) de lambari rosa

Microrganismos	Produto analisado		
	Corpo Limpo	CMS	Referência
<i>Salmonella</i> sp. (25g)	Ausente	Ausente	Ausência
Estafilococcus coag. positiva (UFC/g)	$< 10^2$	$< 10^2$	10^3
Coliformes termotolerantes 45°C (NMP/g)	$< 10^1$	$< 10^1$	5×10^2
Coliformes totais 35°C (NMP/g)	$< 10^2$	$1,7 \times 10^4$	*
Psicrotróficos	$< 10^3$	$2,1 \times 10^5$	10^7 **

UFC: Unidade Formadora de Colônias. NMP: Número Mais Provável. *Valor não estabelecido na legislação; **ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods; Fonte: própria autoria.

Há dois grupos de bactérias coliformes: totais e termotolerantes. O grupo Coliformes totais é formado por enterobactérias, que são capazes de fermentar lactose, produzindo um gás a 35°C - naturalmente encontrados em ambientes de fabricação de alimentos, podendo se tornar parte da microbiota resistente; já os coliformes termotolerantes, comumente chamados de coliformes fecais, é um subgrupo dos coliformes totais, bactérias capazes de fermentar a lactose a 44,5-45,5°C com produção de gás.

Os resultados para coliformes termotolerantes encontrados nas amostras analisadas nesse estudo estão em conformidade com a legislação

vigente. As análises realizadas para grupos de microrganismos para os quais não existe legislação, não podem ser comparadas a nenhum padrão, porém, são importantes quando associados a outras análises que constem na legislação vigente do país. Segundo Tavares e Serafini (2007), os microrganismos que contaminam os produtos cárneos são amplamente encontrados na natureza, podendo estar presentes no ar, na água, no trato digestivo de homens e animais, na pele, nas mãos, no trato respiratório de manipuladores de alimentos, bem como nos utensílios e equipamentos usados no processamento.

A Resolução RDC nº 60 de 2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA), em seu Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos Destinados ao Consumo Humano, não estabelece padrões para coliformes totais à 35°C, nem para microrganismos psicrotróficos, recomendando o uso de normas internacionais como as dispostas no *Codex Alimentarius*, *Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF), *American Public Health Association (APHA)* ou *Food and Drug Administration (FDA)*. De acordo com os padrões internacionais (ICMSF, 1986), o limite máximo aceitável de psicrotróficos é de 10^7 UFC/g, estando o resultado encontrado nesse estudo de acordo com a legislação internacional. A importância de se estimar contagens para psicrotróficos se deve ao fato de que alguns microrganismos se multiplicam e deterioram o pescado por meio de processos proteolíticos mesmo a temperaturas de refrigeração (VIEIRA, 2011; LINDBERG et al., 1998).

FISHBURGER

5.2.4 Determinação da composição química básica dos *fishburgers*

Os resultados para a composição química básica dos ensaios dos *fishburgers* com diferentes concentrações de proteína isolada de soja e transglutaminase microbiana estão apresentados na **Tabela 13**. O percentual de CMS variou para se completar 100% da massa. Excetuando-se a MTGase e a

PIS, os demais ingredientes tinham percentuais fixos. Foram detectadas diferenças significativas entre os ensaios para os parâmetros de umidade, cinzas, proteínas e lipídios ($p < 0,05$).

Tabela 13 – Composição química básica dos *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa dos diferentes ensaios para avaliação da aplicação da transglutaminase microbiana (MTGase)

Ensaio	% PIS + % MTGase	Parâmetro			
		Umidade ¹	Cinzas ²	Proteínas ²	Lipídios ¹
E1	0,44 + 0,22	79,9 ± 0,12 ^a	1,90 ± 0,02 ^f	11,8 ± 0,16 ^f	1,2 ± 0,30 ^b
E2	0,44 + 1,28	79,1 ± 0,17 ^{ab}	2,04 ± 0,01 ^{bcd}	12,0 ± 0,28 ^{ef}	1,7 ± 0,16 ^{ab}
E3	2,56 + 0,22	78,2 ± 0,13 ^{ab}	2,03 ± 0,01 ^{bcde}	13,2 ± 0,02 ^{ab}	1,6 ± 0,03 ^{ab}
E4	2,56 + 1,28	77,4 ± 0,38 ^{ab}	2,12 ± 0,04 ^b	13,4 ± 0,21 ^a	1,7 ± 0,08 ^{ab}
PC5	1,50 + 0,75	79,2 ± 0,22 ^{ab}	2,03 ± 0,03 ^{bcde}	12,5 ± 0,62 ^{cd}	2,4 ± 0,43 ^{ab}
PC6	1,50 + 0,75	79,6 ± 0,31 ^{ab}	2,06 ± 0,02 ^{bcd}	12,7 ± 0,12 ^{cd}	3,1 ± 0,35 ^{ab}
PC7	1,50 + 0,75	79,2 ± 0,05 ^{ab}	1,99 ± 0,01 ^{cde}	11,7 ± 0,11 ^f	2,5 ± 0,06 ^{ab}
A8	1,50 + 0,00	79,5 ± 0,04 ^{ab}	1,95 ± 0,02 ^{ef}	12,3 ± 0,40 ^{de}	3,0 ± 0,30 ^{ab}
A9	1,50 + 1,50	77,0 ± 0,51 ^b	2,23 ± 0,02 ^a	12,9 ± 0,44 ^{bc}	2,8 ± 0,10 ^{ab}
A10	0,00 + 0,75	79,9 ± 0,03 ^a	1,99 ± 0,01 ^{de}	12,7 ± 0,42 ^{cd}	3,1 ± 0,60 ^{ab}
A11	3,00 + 0,75	77,9 ± 0,09 ^{ab}	2,09 ± 0,03 ^{bc}	12,6 ± 0,60 ^{cd}	3,3 ± 0,34 ^a
C1	3,00 + 0,00	77,9 ± 0,34 ^{ab}	2,00 ± 0,01 ^{cde}	12,6 ± 0,70 ^{cd}	2,5 ± 0,13 ^{ab}
C2	3,00 + 0,00	NR	NR	NR	2,3 ± 0,24 ^{ab}
C3	3,00 + 0,00	NR	NR	NR	2,3 ± 0,30 ^{ab}

¹ Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes a $p < 0,05$ pelo teste de Kruskal Wallis; ² Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes a $p < 0,05$ pelo teste de Tukey; NR: Não realizado.

Nessa pesquisa, a soma inferior a 100% dos teores de umidade, proteína, cinzas e lipídios provavelmente se dá pela adição da PIS e MTGase como aglutinante na formulação, conforme relatado por Bainy et al. (2015) em seu estudo com *fishburger* de tilápia adicionado de farinha de trigo.

Para umidade há diferença entre os tratamentos A9 e E1 e entre A9 e A10 ($p < 0,05$). Os valores mais altos de umidades para os tratamentos E1 e A10 (79,9%), são consequência dos menores percentuais de PIS e MTGase (somas de 0,66% e 0,75%, respectivamente) e consequentemente maiores valores de CMS adicionados para completar 100% de massa de *fishburger*, diferentemente do ensaio A9, que apresentou menor percentual de umidade (77%) para maiores

quantidades de PIS + MTGase. Comportamento semelhante para umidade foi observado por Pinto (2017) ao avaliar diferentes percentuais de água, fécula de mandioca e MTGase em *fishburgers* de tilápia. O autor obteve maior teor de umidade, 80,36% para formulação com 21% água, 2% fécula de mandioca e 0,4% MTGase, próximo do encontrado neste estudo, e menor valor de umidade, 73,30% para formulação com 15% água, 10% fécula de mandioca e 1% MTGase, inferior ao dessa pesquisa, concluindo que os maiores valores de umidade foram obtidos onde os ensaios tiveram menores quantidades de fécula e transglutaminase. Marengoni et al. (2009) trabalhando com *fishburgers* de CMS de tilápia relataram maior umidade quando as os percentuais de CMS também eram maiores em suas formulações. O mesmo foi observado por Raúl et al. (2018) ao aumentar o percentual de farelo de trigo em suas formulações de *fishburger* elaborados com filé de biquara (*Haemulon Plumierii*), constatando uma diminuição da umidade de 78,8 para 74,7%.

Os valores de proteínas apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), variando entre 11,7% a 13,4%, para os ensaios PC7 e E4 respectivamente, sendo valores próximos ao encontrado na CMS (12,62%). O que pode justificar o maior valor de proteína encontrado no ensaio E4, é que o mesmo possui quase que as concentrações máximas de PIS (2,56%) e MTGase (1,28%), além de menor umidade, o que aumentou a concentração dos outros componentes. Raúl et al. (2018) também observaram comportamento semelhante para proteína em seus *fishburgers* de biquara adicionados de farelo de trigo; Pinto (2017) observou essa redução da proteína em seus *fishburgers* de tilápia quando aumentou a concentração de MTGase nas formulações, de 2,3% para 2,5%, encontrando teores de 15% e 14% de proteínas, respectivamente, valores superiores aos encontrado no presente estudo. Bainy et al. (2015) encontraram 13,9% de proteína no *fishburger* de tilápia grelhado, o que provavelmente indica que os valores eram mais baixos no produto cru.

Um dado importante a considerar se relaciona com a legislação atual sobre hambúrguer, que estabelece no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer o valor mínimo exigido para proteínas de 15%. Para peixes como o lambari que possui um valor próximo de 13,6% no corpo limpo, a

obtenção de *fishburgers* com 15% de proteínas exigiria a utilização percentuais maiores de proteínas não cárneas, utilizando-se o máximo permitido para esse tipo de produto, que é 4% de proteína não carne, ou mesmo adaptação da legislação existente ou desenvolvimento de legislação específica para hambúrguer de pescado.

Para os teores de lipídios há diferença ($p < 0,05$) apenas entre os tratamentos E1 (1,2%) e A11 (3,3%). Embora a legislação estabeleça um teor máximo de 23% de gordura para hambúrguer de carne bovina, suína e frango (BRASIL, 2000a), não há referência para hambúrguer de pescado. Contudo, adotando essa referência, os mesmos se encontram dentro do permitido pela legislação. Marengoni et al. (2009) trabalhando com *fishburgers* de CMS de tilápia encontraram valores próximos ao encontrado nesse estudo para três de suas quatro formulações, 1,73%, 3,79% e 3,86%. Maciel et al. (2021) e Bairy et al. (2015) relataram valores superiores ao encontrado nesse estudo, 4,19% e 5,21% respectivamente, para *fishburgers* processados a partir de tilápia do Nilo.

O teor de cinzas apresentou diferenças ($p < 0,05$) entre vários tratamentos sendo os menores valores encontrados nas formulações E1 (1,90%) e A8 (1,95%) e o maior valor encontrado em A9 (2,23%). Esses ensaios tinham percentuais de umidade inversos, sendo o E1 e A8 ensaios com maior umidade, e consequentemente menores percentuais dos demais componentes. Outros autores relataram valores de 2,48% (ALI et al., 2019), 2,17% (BAIRY et al., 2015) - ambos em *fishburger* de tilápia, 2,1% em *fishburger* de biquara (*Haemulon Plumieri*) adicionado de farelo de trigo (RAÚL et al., 2018) e 0,65% em *fishburger* de tilápia adicionado de diferentes fontes de proteína (MACIEL et al., 2021). Percentual de $1,9 \pm 0,2$ %, portanto semelhante ao encontrado no ensaio E1 foram relatados por Muzzolon et al. (2018) em *fishburger* a base de CMS de tilápia.

5.2.5 Teores de Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV) dos *fishburgers*

Os valores BNV dos *fishburgers* variaram entre 4,8 e 7,8 mg/100g (**Tabela 14**), não sendo detectada diferença estatística para os ensaios analisados, considerando-se $p < 0,05$. Porém, haveria diferença significativa entre os *fishburgers* dos ensaios E2 e A11 a $p = 0,07$. A ausência de diferenças entre os *fishburgers* dos ensaios analisados se justifica pela igual origem da matéria principal, CMS, e por seu percentual relativamente semelhante nos diversos ensaios.

Valores superiores aos encontrados nessa pesquisa, e variando entre 9,25 a 11,20 mg N/100 g foram observados por Ali et al. (2019) em *fishburger* de tilápia com diferentes níveis de purê de batata e purê de abóbora. Tokur et al. (2004) avaliando as alterações na qualidade do *fishburger* de tilápia obtiveram valor de 7,55 mg N/100 g, próximo ao encontrado no presente estudo.

Tabela 14 – Valores de Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV) dos *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa

ENSAIO	% PIS + % MTGase	BNV (mg N/100g)
E1	0,44 + 0,22	6,7 ± 0,56
E2	0,44 + 1,28	7,8 ± 0,33
E3	2,56 + 0,22	7,3 ± 0,64
E4	2,56 + 1,28	6,3 ± 0,16
PC5	1,50 + 0,75	7,4 ± 0,43
PC6	1,50 + 0,75	6,4 ± 0,44
PC7	1,50 + 0,75	5,8 ± 1,07
A8	1,50 + 0,00	5,8 ± 0,77
A9	1,50 + 1,50	6,7 ± 0,50
A10	0,00 + 0,75	5,8 ± 0,88
A11	3,00 + 0,75	4,8 ± 0,40
C1	3,00 + 0,00	5,6 ± 0,16
C2	3,00 + 0,00	7,0 ± 0,80
C3	3,00 + 0,00	6,7 ± 0,59

PIS: Proteína isolada de Soja; MTGase: Transglutaminase microbiana. Média + desvio padrão n=3. Fonte: própria autoria.

O conteúdo de bases voláteis totais (BVT) também chamadas de bases nitrogenadas voláteis (BNV) é um parâmetro importante na detecção do frescor do pescado. Durante o armazenamento em gelo, as BNV são produzidas em

maior velocidade pelas bactérias aeróbicas, e o seu teor não é homogêneo ao longo do corpo, sendo produzida em maior quantidade no músculo vermelho e, portanto, sendo ligeiramente maior em peixes com maiores proporções desse tipo de vermelho (CONTRERAS-GÚSMAN, 1994b). Segundo Ogawa & Maia (1999), para peixes com frescor máximo, o teor de BNV atinge entre 5 a 10 mg/100g no músculo. A legislação brasileira estabelece valores máximos de 30 mg N/100g para peixe fresco, exceto elasmobrânquios (BRASIL, 1997). Nos peixes de água doce, as BNV variam pouco, não atingindo o valor de 30 mg mesmo quando não foram aprovados sensorialmente, o que tem levado a não indicação desse tipo de análise para avaliação de frescor em peixes de água doce (MAIA et al., 1983 apud CONTRERAS-GÚSMAN, 1994b).

Assim, pode-se inferir que, os resultados de BNV encontrados nos *fishburgers*, associados com o pH da matéria-prima e baixas contagens de microrganismos comprovam a qualidade do produto desenvolvido nesse estudo, estando tais resultados de acordo com a legislação vigente.

5.2.6 Avaliação microbiológica dos *fishburgers*

Os resultados para a análise microbiológicas dos quatro ensaios (E4, PC7 A9 e C1), selecionados aleatoriamente, estão apresentados na **Tabela 15**.

Tabela 15 – Avaliação microbiológica de *fishburgers* de CMS de lambari rosa de ensaios escolhidos aleatoriamente

Microrganismos	Produto Analisado				Referência
	E4	PC7	A9	C1	
<i>Salmonella</i> sp. (25g)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausência
<i>Estafilococcus coag. positiva</i> (UFC/g)	$< 10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$	10^3
Coliformes termotolerantes 45°C (NMP/g)	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$	5×10^2
Coliformes totais 35°C (NMP/g)	Ausente	$1,1 \times 10^1$	Aus.	Ausente	.
Psicrotróficos	$5,2 \times 10^1$	$7,3 \times 10^1$	$2,8 \times 10^1$	$6,5 \times 10^1$	10^7 **

UFC: Unidade Formadora de Colônias. NMP: Número Mais Provável. *Valor não estabelecido na legislação; **ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Fonte: própria autoria.

A decisão de selecionar aleatoriamente alguns ensaios para a realização das análises microbiológicas se baseou no fato de que os materiais empregados na formulação pertenciam ao mesmo lote e todo o cuidado foi tomado quanto às

boas práticas de fabricação dos *fishburgers*. A CMS foi parcialmente descongelada no dia do processamento e a preparação das massas foi realizada com controle durante a mistura, de modo que a temperatura não fosse elevada além de 12°C.

Os resultados encontrados para análise microbiologia dos *fishburgers* estão de acordo com os padrões microbiológicos para alimentos estabelecidos para pescado, conforme item 7.“c” (produtos à base de carne moída ou picada de pescado, como hambúrgueres, empanados, linguças), da Instrução Normativa N° 60 da ANVISA (BRASIL, 2019), confirmando a qualidade da matéria-prima, bem como o processamento dos *fishburgers* de acordo com as Boas Práticas de Fabricação (BPF). Bainy et al. (2015) e Raúl et al. (2018) obtiveram resultados em consonância com a legislação para *fishburger* de tilápia e biquara, respectivamente.

5.2.7 Avaliação das variáveis estudadas no planejamento experimental aplicado aos *fishburgers*

Os resultados das variáveis respostas são apresentados nas **Tabelas 16 e 17** a seguir. A **Tabela 16** mostra os valores obtidos relacionados à textura e a **Tabela 17** mostra a perda de peso na cocção, encolhimento e cor.

Todos estes dados foram analisados estatisticamente e estão discutidos separadamente por tópicos. As análises de variância (ANOVAs) realizadas para as respostas estudadas a fim de verificar o efeito dos níveis de proteína isolada de soja (PIS) e transglutaminase microbiana (MTGase) estão descritas na **Tabela 18**.

Tabela 16 – Valores de Dureza, Gomosidade, Coesividade, Elasticidade e Mastigabilidade obtidos na análise de perfil de textura de *fishburgers* de CMS de lambari rosa grelhados, elaborados com diferentes concentrações de proteína isolada de soja (PIS) e transglutaminase microbiana (MTgase)

ENSAIO	PIS + MTGase (%)	DUREZA (Kgf)	GOMOSIDADE (J)	COESIVIDADE *	ELASTICIDADE (mm)	MASTIGABILIDADE (Kgf)
E1	0,44 + 0,22	3832,54 ± 273,72 ^{cd}	2732,10 ± 175,95 ^{bc}	0,713 ± 0,019 ^{bc}	0,756 ± 0,030 ^d	2070,85 ± 208,14 ^{cdef}
E2	0,44 + 1,28	3787,11 ± 340,89 ^{cd}	2747,81 ± 290,79 ^{bc}	0,725 ± 0,012 ^{bc}	0,788 ± 0,024 ^{cd}	2169,90 ± 274,57 ^{cde}
E3	2,56 + 0,22	4174,94 ± 190,87 ^{bc}	2912,54 ± 145,22 ^b	0,697 ± 0,05 ^{bcd}	0,799 ± 0,038 ^{cd}	2324,19 ± 73,63 ^{bcd}
E4	2,56 + 1,28	4810,51 ± 306,53 ^a	3458,52 ± 194,16 ^a	0,719 ± 0,012 ^{bc}	0,792 ± 0,037 ^{cd}	2741,87 ± 234,28 ^b
PC5	1,50 + 0,75	2938,44 ± 102,93 ^e	2056,69 ± 69,39 ^{de}	0,700 ± 0,013 ^{bc}	0,863 ± 0,028 ^{ab}	1776,00 ± 87,147 ^{efg}
PC6	1,50 + 0,75	3142,06 ± 302,87 ^e	2244,49 ± 205,87 ^{de}	0,714 ± 0,011 ^{bc}	0,787 ± 0,017 ^{cd}	1768,67 ± 200,98 ^{efg}
PC7	1,50 + 0,75	3382,62 ± 66,37 ^{de}	2337,24 ± 83,70 ^{cde}	0,691 ± 0,015 ^{cde}	0,817 ± 0,017 ^{bcd}	1911,68 ± 99,60 ^{defg}
A8	1,50 + 0,00	2873,19 ± 244,36 ^e	2052,38 ± 202,53 ^{de}	0,714 ± 0,014 ^{bc}	0,787 ± 0,030 ^{cd}	1615,15 ± 156,08 ^g
A9	1,50 + 1,50	4691,03 ± 240,16 ^{ab}	3584,23 ± 216,98 ^a	0,764 ± 0,011 ^a	0,901 ± 0,020 ^a	3231,85 ± 253,73 ^a
A10	0,00 + 0,75	3375,00 ± 243,71 ^{de}	2410,76 ± 258,52 ^{cd}	0,713 ± 0,029 ^{bc}	0,795 ± 0,016 ^{cd}	1918,45 ± 226,66 ^{defg}
A11	3,00 + 0,75	4030,71 ± 110,77 ^c	2951,73 ± 82,02 ^b	0,732 ± 0,008 ^{ab}	0,846 ± 0,018 ^{abc}	2497,30 ± 63,11 ^{bc}
C1	3,00 + 0,00	2886,74 ± 273,73 ^e	1907,80 ± 154,31 ^e	0,661 ± 0,010 ^{def}	0,801 ± 0,016 ^{bcd}	1527,96 ± 134,11 ^g
C2	3,00 + 0,00	3061,18 ± 287,57 ^e	1983,09 ± 186,94 ^{de}	0,648 ± 0,016 ^{ef}	0,777 ± 0,032 ^d	1537,50 ± 102,78 ^g
C3	3,00 + 0,00	3067,15 ± 114,62 ^e	2015,50 ± 137,81 ^{de}	0,656 ± 0,022 ^f	0,812 ± 0,012 ^{bcd}	1638,10 ± 121,44 ^{fg}

% - percentual; Kgf – quilograma-força; J – Joule; *adimensional; mm – milímetro; média + desvio padrão, (n≥3). Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05). Fonte: Própria autoria.

Tabela 17 – Percentuais de encolhimento, perda de peso por cocção e valores de Croma determinados em *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa e diferentes concentrações de proteína isolada de soja (PIS) e transglutaminase microbiana (MTGase)

ENSAIO	PIS + MTGase (%)	% de encolhimento	% de perda de peso por cocção	Croma
E1	0,44 + 0,22	4,5 ± 0,92 ^{ab}	10,20 ± 3,50	11,45 ± 0,53 ^{cd}
E2	0,44 + 1,28	5,6 ± 0,21 ^{ab}	11,42 ± 2,28	10,47 ± 0,15 ^f
E3	2,56 + 0,22	4,0 ± 1,33 ^{ab}	12,37 ± 4,15	11,70 ± 0,84 ^{bc}
E4	2,56 + 1,28	4,2 ± 1,69 ^{ab}	8,25 ± 1,13	12,07 ± 0,62 ^b
PC5	1,50 + 0,75	4,9 ± 1,93 ^{ab}	14,57 ± 3,45	11,20 ± 0,30 ^{de}
PC6	1,50 + 0,75	4,2 ± 0,06 ^{ab}	10,53 ± 0,32	11,57 ± 0,54 ^{cd}
PC7	1,50 + 0,75	3,6 ± 0,62 ^{ab}	14,37 ± 0,36	11,37 ± 0,10 ^{cd}
A8	1,50 + 0,00	4,2 ± 0,84 ^{ab}	10,36 ± 1,85	11,45 ± 0,37 ^{cd}
A9	1,50 + 1,50	5,2 ± 1,23 ^{ab}	14,91 ± 5,13	12,02 ± 0,17 ^b
A10	0,00 + 0,75	5,9 ± 0,32 ^a	11,19 ± 0,84	10,87 ± 0,22 ^{ef}
A11	3,00 + 0,75	4,6 ± 0,61 ^{ab}	7,89 ± 2,21	12,95 ± 0,75 ^a
C1	3,00 + 0,00	2,6 ± 0,69 ^{ab}	9,53 ± 1,81	11,73 ± 0,66 ^{bc}
C2	3,00 + 0,00	2,0 ± 0,13 ^b	10,00 ± 1,35	NR

Média + desvio padrão, n=3; ^{a,b} médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes a p<0,05 pelo Teste de Kruskal Wallis para % de encolhimento e % de perda de peso por cocção e pelo Teste de Tukey para Croma. NR – Não realizado. Fonte: própria autoria.

Observa-se que não houve efeitos estatisticamente significativos ($p>0,05$) para a maioria das respostas (**Tabela 18**). Quando não há efeitos significativos das variáveis estudadas, não há possibilidade de gerar modelos que possam descrever a influência das variáveis nas respostas. Mas, a ANOVA indicou que as variáveis (PIS e MTGase) influenciaram duas respostas, a cor do produto, Croma, parâmetro da análise instrumental de cor, e Suculência, parâmetro da análise sensorial, uma característica da textura. Para a Croma PIS e a interação (PIS × MTGase) foram os efeitos significativos e para a Suculência, ambos apresentaram efeitos, PIS e MTGase, mas não a interação entre elas (Tabela 18).

Tabela 18 – Tabelas ANOVA avaliando os efeitos das variáveis PIS (1) e MTGase (2) e a interação entre elas (1 e 2) nas variáveis respostas dos dados obtidos no delineamento experimental (Continua)

DUREZA (TPA)						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	466352	1	466352,4	0,776162	0,443188	682,900
(2)MTGase	87066	1	87066,3	0,144907	0,728807	295,070
Interação	115940	1	115940,3	0,192962	0,690178	340,500
Resíduo	1802532	3	600844,0			
Total	2471891	6				
GOMOSIDADE (TPA)						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	198535	1	198535,3	0,592668	0,497454	445,573
(2)MTGase	78873	1	78872,8	0,235451	0,660739	280,843
Interação	70298	1	70297,6	0,209853	0,678028	265,137
Resíduo	1004957	3	334985,8			
Total	1352663	6				
COESIVIDADE (TPA)						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	0,000110	1	0,000110	0,641866	0,481617	-0,0105
(2)MTGase	0,000289	1	0,000289	1,682533	0,285334	0,017
Interação	0,000023	1	0,000023	0,131357	0,741057	0,00475
Resíduo	0,000515	3	0,000172			
Total	0,000937	6				
ELASTICIDADE (TPA)						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	0,000535	1	0,000535	0,291882	0,626546	0,023125
(2)MTGase	0,000153	1	0,000153	0,083586	0,791323	0,012375
Interação	0,000385	1	0,000385	0,210215	0,677774	-0,019625
Resíduo	0,005496	3	0,001832			
Total	0,006569	6				
MASTIGABILIDADE (TPA)						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	170280,0	1	170280,0	1,122173	0,367191	412,650
(2)MTGase	66755,1	1	66755,1	0,439927	0,554571	258,370
Interação	25379,7	1	25379,7	0,167256	0,710006	159,310
Resíduo	455223,9	3	151741,3			
Total	717638,7	6				

F_{tabelado} com 95% de confiança; % variação explicada (R²): SQ_R/SQ_T; F_{calc.} (QM_R/QM_I) maior que o F_{tab.} no nível de 95% de confiança. TPA: Análise de Perfil de Textura. Fonte: própria autoria.

Tabela 18 – Tabelas ANOVA avaliando os efeitos das variáveis PIS (1) e MTGase (2) e a interação entre elas (1 e 2) nas variáveis respostas dos dados obtidos no delineamento experimental (Continuação)

ENCOLHIMENTO						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	0,908708	1	0,908708	2,61014	0,204597	-0,95326
(2)MTGase	0,487153	1	0,487153	1,399282	0,32205	0,697964
Interação	0,22035	1	0,22035	0,632924	0,484418	-0,46941
Resíduo	1,044435	3	0,348145			
Total	2,660646	6				
PERDA PESO COZÇÃO						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	0,24390	1	0,243899	0,033349	0,866742	-0,49386
(2)MTGase	2,09505	1	2,095047	0,286462	0,629629	-1,44743
Interação	7,13653	1	7,136533	0,975798	0,396067	-2,67143
Resíduo	21,94061	3	7,313536			
Total	31,41609	6				
CROMA						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	0,855323	1	0,855323	35,37728	0,009503	0,92484
(2)MTGase	0,097093	1	0,097093	4,01591	0,138791	-0,3116
Interação	0,455728	1	0,455728	18,84953	0,022554	0,67508
Resíduo	0,072532	3	0,024177			
Total	1,480676	6				
MACIEZ (AS)						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	0,395463	1	0,395463	1,968691	0,255175	-0,62886
(2)MTGase	0,395903	1	0,395903	1,970883	0,254966	0,629208
Interação	0,114845	1	0,114845	0,571722	0,504531	-0,33889
Resíduo	0,602628	3	0,200876			
Total	1,50884	6				
SUCULÊNCIA (AS)						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	0,395682	1	0,395682	50,30079	0,005766	-0,62903
(2)MTGase	0,137617	1	0,137617	17,49449	0,024904	0,370968
Interação	0,075182	1	0,075182	9,55748	0,05365	0,274194
Resíduo	0,023599	3	0,007866			
Total	0,63208	6				

F_{tabelado} com 95% de confiança; % variação explicada (R²): SQ_R/SQ_T; F_{calc.} (QM_R/QM_I) maior que o F_{tab.} no nível de 95% de confiança. AS: Análise Sensorial. Fonte: própria autoria.

Tabela 18 – Tabelas ANOVA avaliando os efeitos das variáveis PIS (1) e MTGase (2) e a interação entre elas (1 e 2) nas variáveis respostas dos dados obtidos no delineamento experimental (Conclusão)

GOMOSIDADE (AS)						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	0,016649	1	0,016649	0,060399	0,821721	0,129032
(2)MTGase	0,026015	1	0,026015	0,094374	0,778779	0,16129
Interação	0,266389	1	0,266389	0,966385	0,398071	0,516129
Resíduo	0,826966	3	0,275655			
Total	1,136019	6				
MASTIGABILIDADE (AS)						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	0,016649	1	0,016649	0,060399	0,821721	0,129032
(2)MTGase	0,026015	1	0,026015	0,094374	0,778779	0,16129
Interação	0,266389	1	0,266389	0,966385	0,398071	0,516129
Resíduo	0,826966	3	0,275655			
Total	1,136019	6				
ACEITABILIDADE (AS)						
Fator	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P	Efeito
(1)PIS	0,093913	1	0,093913	0,182363	0,698145	-0,30645
(2)MTGase	0,526795	1	0,526795	1,022949	0,386311	0,725806
Interação	0,093913	1	0,093913	0,182363	0,698145	-0,30645
Resíduo	1,544931	3	0,514977			
Total	2,259551	6				

F_{tabelado} com 95% de confiança; % variação explicada (R^2): SQ_R/SQ_T ; $F_{\text{calc.}}$ (QM_R/QM_r) maior que o $F_{\text{tab.}}$ no nível de 95% de confiança. AS: Análise Sensorial. Fonte: própria autoria.

Em relação aos efeitos não significativos estatisticamente das variáveis para a maioria das respostas (**Tabela 18**), dois fatores poderiam estar envolvidos. O primeiro foi ter adotado uma faixa muito estreita de concentração dos componentes da formulação foco do delineamento experimental (PIS e MTGase). O segundo fator a ser considerado foi que a composição da CMS promoveu à obtenção de um produto com características relativamente estáveis, independentemente dos outros componentes da formulação. Considerando que as faixas de concentração da MTGase e da PIS variaram de 0,0 a 1,5% e de 0,0 a 3,0%, respectivamente, supõem-se que a utilização da CMS sem lavagem pode ter sido o principal fator, o qual anulou efeitos da PIS e MTGase, servindo

como uma espécie de “tampão” que estabilizou as características dos *fishburgers* obtidos nos diferentes ensaios do delineamento experimental.

Embora os efeitos das variáveis (PIS, MTGase e PIS × MTGase) só tenha existido para duas respostas (Croma e Suculência), optou-se por apresentar os resultados completos da Análise de Variância (ANOVA) ($p < 0,05$) dos modelos de primeira e segunda ordem (**Tabela 19**) para todas as respostas, no entanto, os modelos de primeira ordem foram os que se ajustaram aos dados experimentais para Croma e Suculência (AS), equações 3 e 4, respectivamente.

$$Croma = 11,40 + 0,46 PIS + 0,33 PIS.MTGase \quad (3)$$

$$Suculência = 4,1059 - 0,3145 PIS + 0,1854 MTGase \quad (4)$$

Com exceção da Croma e Suculência, para todos os outros modelos, o $F_{\text{calculado}}$ foi inferior ao F_{tab} , indicando estatisticamente que nenhum deles pode descrever a influência dos teores de proteína isolada de soja (PIS) e transglutaminase microbiana (MTGase) nas propriedades avaliadas, observação, previamente, constatada na análise dos efeitos principais.

Tabela 19 – ANOVAS das regressões dos modelos de primeira e segunda ordem das variáveis respostas (MS Residual) (Continua)

Primeira Ordem DUREZA (TPA)					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	669359	3	223119,65	0,371344	9,28
Resíduo (r)	1802532	3	600844,05		
Total (T)	2471891	6			
R ²	0,27079				
Segunda Ordem DUREZA (TPA)					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	3404508	5	680901,6	3,6149736	5,05
Resíduo (r)	941780	5	188355,9		
Total (T)	4346288	10			
R ²	0,78331				
Primeira Ordem GOMOSIDADE (TPA)					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	347706	3	115901,906	0,34599047	9,28
Resíduo (r)	1004957	3	334985,827		
Total (T)	1352663	6			
R ²	0,25705				
Segunda ordem GOMOSIDADE (TPA)					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	2267255	5	453451,083	4,9967704	5,05
Resíduo (r)	453744	5	90748,8329		
Total (T)	2721000	10			
R ²	0,83324				
Primeira Ordem COESIVIDADE (TPA)					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	0,000422	3	0,000140604	0,81858507	9,28
Resíduo (r)	0,000515	3	0,000172		
Total (T)	0,000937	6			
R ²	0,45012				
Segunda ordem COESIVIDADE (TPA)					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	0,002561	5	0,00051214	1,92464098	5,05
Resíduo (r)	0,001330	5	0,0002661		
Total (T)	0,003891	10			
R ²	0,65808				

F_{tabelado} com 95% de confiança; % variação explicada (R²): SQR/SQT; F_{calc.} (QMR/QM_r) maior que o F_{tab.} no nível de 95% de confiança. TPA: Análise de Perfil de Textura. Fonte: própria autoria.

Tabela 19 – ANOVA das regressões dos modelos de primeira e segunda ordem das variáveis respostas (MS Residual) (Continuação)

Primeira Ordem ELASTICIDADE (TPA)					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	0,001073	3	0,000358	0,1952279	9,28
Resíduo (r)	0,005496	3	0,001832		
Total (T)	0,006569	6			
R ²	0,16334				
Segunda Ordem ELASTICIDADE (TPA)					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	0,007439	5	0,001488	0,741104	5,05
Resíduo (r)	0,010038	5	0,002008		
Total (T)	0,017476	10			
R ²	0,42565				
Primeira Ordem MASTIGABILIDADE (TPA)					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	262415	3	87471,59	0,5764521	9,28
Resíduo (r)	455223,9	3	151741,3		
Total (T)	717638,7	6			
R ²	0,36566				
Segunda ordem MASTIBABILIDADE (TPA)					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	1940864	5	388172,8	4,7757121	5,05
Resíduo (r)	406403	5	81280,62		
Total (T)	2347267	10			
R ²	0,82686				
Primeira Ordem ENCOLHIMENTO					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	2	3	0,5387367	1,54744862	9,28
Resíduo (r)	1,044435	3	0,25		
Total (T)	2,660646	6			
R ²	0,60745				
Segunda ordem ENCOLHIMENTO					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	3,8	5	0,7688251	3,36084232	5,05
Resíduo (r)	1,143798	5	0,2287596		
Total (T)	4,987924	10			
R ²	0,77069				

F_{tabelado} com 95% de confiança; % variação explicada (R²): SQR/SQT; F_{calc.} (QMR/QM_r) maior que o F_{tab.} no nível de 95% de confiança. TPA: Análise de Perfil de Textura. Fonte: própria autoria.

Tabela 19 – ANOVA das regressões dos modelos de primeira e segunda ordem das variáveis respostas (MS Residual) (Continuação)

Primeira Ordem PERDA PESO COÇÇÃO					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	9	3	3,1584929	0,43186947	9,28
Resíduo (r)	21,94061	3	4,702884		
Total (T)	31,41609	6			
R ²	0,30161				
Segunda Ordem PERDA PESO COÇÇÃO					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	34	5	6,832362	1,452803	5,05
Resíduo (r)	23,51442	5	4,702884		
Total (T)	57,67623	10			
R ²	0,5923				
Primeira Ordem CROMA					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	1	3	0,4693814	19,41424	9,28
Resíduo (r)	0,072532	3	0,0241771		
Total (T)	1,480676	6			
R ²	0,95101				
Segunda Ordem CROMA					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	3	5	0,6970082	4,38592044	5,05
Resíduo (r)	0,794597	5	0,1589195		
Total (T)	4,279639	10			
R ²	0,81433				
Primeira Ordem MACIEZ (AS)					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	1	3	0,3020705	1,503766	9,28
Resíduo (r)	0,602628	3	0,2008760		
Total (T)	1,508840	6			
R ²	0,6006				
Segunda Ordem MACIEZ (AS)					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	1	5	0,1904784	1,44549193	5,05
Resíduo (r)	0,658871	5	0,1317741		
Total (T)	1,611263	10			
R ²	0,59108				

F_{tabelado} com 95% de confiança; % variação explicada (R²): SQR/SQT; F_{calc.} (QMR/QM_r) maior que o F_{tab.} no nível de 95% de confiança. AS: Análise Sensorial. Fonte: própria autoria.

Tabela 19 – ANOVA das regressões dos modelos de primeira e segunda ordem das variáveis respostas (MS Residual) (Conclusão)

Primeira Ordem SUCULÊNCIA (AS)					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	1	3	0,2028269	25,7842519	9,28
Resíduo (r)	0,023599	3	0,0078663		
Total (T)	0,632080	6			
R ²	0,96266				
Segunda Ordem SUCULÊNCIA (AS)					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	1	5	0,1972076	2,272584	5,05
Resíduo (r)	0,433884	5	0,0867768		
Total (T)	1,419922	10			
R ²	0,69443				
Primeira Ordem MASTIGABILIDADE (AS)					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	0	3	0,103018	0,373719	9,28
Resíduo (r)	0,826966	3	0,275655		
Total (T)	1,136019	6			
R ²	0,27205				
Segunda Ordem MASTIGABILIDADE (AS)					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	1	5	0,176280	2,817675	5,05
Resíduo (r)	0,312811	5	0,062562		
Total (T)	1,194211	10			
R ²	0,73806				
Primeira Ordem ACEITABILIDADE (AS)					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	1	3	0,238207	0,462558	9,28
Resíduo (r)	1,544931	3	0,514977		
Total (T)	2,259551	6			
R ²	0,31627				
Segunda Ordem ACEITABILIDADE (AS)					
Varição	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	2	5	0,33084	1,85206	5,05
Resíduo (r)	0,893160	5	0,17863		
Total (T)	2,547347	10			
R ²	0,64938				

F_{tabelado} com 95% de confiança; % variação explicada (R²): SQR/SQT; F_{calc.} (QMR/QM_r) maior que o F_{tab.} no nível de 95% de confiança. AS: Análise Sensorial. Fonte: própria autoria.

Análise do Perfil de Textura (TPA)

Conforme relatado anteriormente, na análise do delineamento composto central rotacional (DCCR) (**Tabela 16**), os parâmetros de textura foram submetidos ao teste ANOVA para modelos de primeira e segunda ordem, tendo sido obtidos valores de $F_{\text{calculado}}$ de 3,61 para dureza, 5,00 para gomosidade, 1,92 para coesividade, 0,74 para elasticidade e 4,77 para mastigabilidade, implicando modelos matemáticos não significativos. Os valores de r^2 também foram baixos, 0,7833; 0,8332; 0,6581; 0,4257 e 0,8269, respectivamente (**Tabela 19**), e por isso não foi possível obter um modelo preditivo que demonstrasse os efeitos de PIS e MTGase.

Com ausência de um modelo preditivo, utilizou-se a análise de variância e testes de médias para identificar diferenças significativas entre os ensaios e os resultados obtidos na análise de textura dos *fishburgers* de CMS de lambari rosa (**Tabela 16**).

Na aceitação de produtos cárneos como *fishburger*, a textura é parâmetro determinante para a escolha dos consumidores, sendo a dureza seu principal atributo (GÓES-FAVON et al., 2021). Para os parâmetros de Dureza e Gomosidade foi possível verificar a formação de 3 grupos de amostras, dos quais, os ensaios E4 e A9 apresentaram valores mais altos para tais parâmetros; A11, E1, E2 e E3 valores intermediários, e PCs, Controles e A8 os valores mais baixos. O que justifica os ensaios E4 e A9 apresentarem valores mais altos para Dureza e Gomosidade é o fato de os mesmos possuírem percentuais próximos do máximo de PIS e MTGase na formulação, indicando que houve um aumento na reticulação das proteínas, proporcionando um efeito de aumento da dureza e da gomosidade dos *fishburgers*. De fato, na análise do delineamento experimental verificou-se que a variação de 0 a 3% de PIS promoveu uma tendência de aumento de 682,9N e 445,57J em média na dureza e gomosidade, respectivamente; a variação de 0 a 1,5% de MTGase teve um efeito sinérgico de 295,07N na dureza e 280,84J na gomosidade, e a interação entre elas (PIS $\times$ MTGase) teve efeito sinérgico de 340,5N na dureza e 265,14J na gomosidade. Pinto (2017) elaborou *fishburger* de CMS de tilápia contendo diferentes

concentrações de MTGase, fécula de mandioca e água e verificou que a MTGase influenciou significativamente ($p < 0,05$) na dureza dos *fishburgers*, sendo que os maiores valores de dureza foram obtidos para as menores concentrações de MTGase (0,4% e 1%) resultando em efeito linear antagônico, contrariando os resultados encontrados nessa pesquisa. Corroborando com os resultados encontrados nesse estudo, Martelo-Vidal et al. (2016) realizaram estudo com reestruturado de atum branco (*Thunnus alalunga*) utilizando a MTGase e relataram que, ao aumentar a concentração de MTGase de 150 U/kg para 450 U/kg, aumentou também a dureza em quase 40%; Canto et al. (2014) também relataram aumento na dureza após o cozimento nos reestruturados que tiveram a incorporação de MTGase em bifes de jacaré, e também atribuíram esse aumento às reticulações das proteínas devido a ação da MTGase nas propriedades funcionais do reestruturado. Chen et al. (2019) utilizaram a MTGase (0 a 1,0%) para melhorar a textura de ovas do pollock do Alasca (*Theragra chalcogramma*) e descreveram que a dureza das ovas aumentou quando se comparou a concentração de MTGase de 0 para 0,50%.

A Coesividade teve uma pequena variação, de 0,648 a 0,764, e os efeitos verificados com alterações dos menores para os maiores níveis de PIS e MTGase no delineamento experimental apresentaram valores inferiores a 0,02, não sendo estatisticamente significativos ($p > 0,05$) para nenhuma das variáveis e sua interação. Na análise de variância (**Tabela 16**), os ensaios A9 e A11 apresentaram os maiores valores (0,764 e 0,732), mostrando diferença significativa ($p < 0,05$) com os ensaios Controle (C1, C2, C3) os menores valores para este parâmetro. O ensaio A9 teve o maior valor de coesividade (0,764), podendo ser justificado por ser o ensaio com percentual máximo de MTGase, 1,50%, e 1,50% de PIS. O processo de cozimento em reestruturados cárneos de pescado adicionados de MTGase promovem a desnaturação das moléculas de proteína favorecendo as reações de reticulação, o que acaba melhorando a coesividade (TÉLLEZ-LUIS, et al. 2002). Diferentemente desse estudo, Pinto (2017) não observou influência das variáveis estudadas (MTGase, fécula e água) na coesividade do *fishburger* de tilápia; Canto et al. (2014), relataram que em tratamentos que tiveram a substituição parcial do NaCl por KCl e/ou $MgCl_2$ na

presença da MTGase, houve uma diminuição significativa ($p < 0,05$) da coesividade e da dureza; Raúl et al. (2018) obtiveram menor coesividade ($p < 0,05$) em *fishburgers* de biquara quando houve um aumento de até 3% no farelo de trigo, encontrando resultado próximo (0,79) ao obtido nesse estudo para o ensaio que produziu *fishburgers* mais coesos, A9. Assim como nesse estudo, Martelo-Vidal et al. (2016) também relataram ter obtido pequena variação na coesividade (0,352 com 150 U/kg de MTGase a 0,416 com 300 U/kg de MTGase). Embora tenham encontrado coesividade inferior ao dessa pesquisa (0,416) para reestruturado de atum branco (*Thunnus alalunga*) a uma temperatura de 4°C/12hs, afirmaram que a adição da MTGase melhorou os parâmetros de textura quando comparados ao reestruturado controle, sem adição da enzima.

Os *fishburgers* dos ensaios A9, A11 e PC5 apresentaram os maiores valores para Elasticidade (**Tabela 16**). A análise do delineamento experimental mostrou que a variação de 0 a 3% de PIS promoveu uma tendência de aumento de 0,023 mm em média na Elasticidade, e a variação de 0 a 1,5% de MTGase teve um efeito sinérgico de 0,012mm, assim como a interação das variáveis (PIS $\times$ MTGase) 0,019mm. No entanto, tais efeitos não foram significativos para permitir a utilização de um modelo de regressão. O ensaio A9 apresentou maior elasticidade, 0,901mm, e E1, o menor valor, 0,756mm para este parâmetro, confirmando os resultados do planejamento experimental, que quanto maior os percentuais das variáveis estudadas, maior a elasticidade do produto. Corroborando com os resultados encontrados, Martelo-Vidal et al. (2016) também observaram essa variação no reestruturado de atum branco quando a concentração de MTGase aumentou de 150 U/kg para 450 U/kg, resultando em 0,632mm e 0,802mm, respectivamente. Tais resultados ainda ficaram abaixo dos encontrados no presente estudo para o ensaio mais elástico, A9. Yasin et al. (2016) investigando a influência da κ -carragenina e gelatina de peixe em bolinho de frango encontraram valor de 0,79 mm, próximo ao desse estudo para o ensaio E1.

Para Mastigabilidade a tendência de maiores valores ocorreu para os *fishburgers* do ensaio A9 seguidos de A11 e os ensaios E1, E2, E3 e E4, depois

os PCs e por último os Controles (**Tabela 16**). A análise do delineamento experimental mostrou que a variação de 0 a 3% de PIS promoveu uma tendência de aumento de 412,65N em média na Mastigabilidade, a variação de 0 a 1,5% de MTGase teve um efeito sinérgico, possibilitando um ganho de 258,37N na Mastigabilidade, e a interação entre elas (PIS $\times$ MTGase) teve efeito sinérgico de 159,31N. No entanto, tais efeitos não foram significativos para permitir a utilização de um modelo de regressão. Corroborando com os resultados encontrados nesse estudo, Martelo-Vidal et al. (2016) relataram aumento na Mastigabilidade ao se aumentar o percentual de MTGase em reestruturado com atum branco, obtendo um aumento na Mastigabilidade de 4167,17g com 150 U/kg de MTGase para 7308,36g usando 450 U/kg de MTGase. Yasin et al. (2016) encontraram valor inferior (30,495 N/mm) ao encontrado nesse estudo para o ensaio A9. Pinto (2017) relatou o inverso desse estudo, a Mastigabilidade diminuiu à medida que aumentou a concentração de MTGase em *fishburger* de tilápia elaborado com 0,4% de MTGase.

Percentual de encolhimento e perda de peso por cocção (%PPC)

Verificou-se diferença significativa em relação ao percentual de encolhimento dos *fishburgers* apenas entre os ensaios A10 ($5,9 \pm 0,32$) e C2 ($2,0 \pm 0,13$) e uma tendência de maior encolhimento nas amostras que continham menor porcentagem de PIS ($p < 0,05$) (**Tabela 17**). Para perda de peso por cocção, não foi observada diferença significativa entre os ensaios ($p > 0,05$) (**Tabela 17**). Na análise estatística dos efeitos principais das variáveis (PIS, MTGase e PIS $\times$ MTGase) não foi constatada nenhuma influência nas respostas, % de perda de peso e encolhimento (**Tabela 18**), portanto, para estas duas respostas não foi possível ajustar qualquer modelo de primeira ou segunda ordem, como era de se esperar (**Tabela 19**).

Em produtos cárneos reestruturados, além da textura, o percentual de encolhimento e o rendimento na cocção são fatores importantes na hora da escolha desses alimentos (MACHADO et al., 2014). O percentual de encolhimento é uma das características mais importantes em reestruturados

cárneos, uma vez que, tecnologicamente, reflete as falhas durante o processo de fabricação (PINTO, 2017). Nos *fishburgers* de CMS de lambari rosa, os resultados de % de encolhimento obtidos variaram entre $2,0 \pm 0,13$ (C2) e $5,9 \pm 0,32$ (A10), sendo detectada diferença significativa ($p < 0,05$) apenas entre esses dois ensaios, mas com o ensaio C1 também apresentando um percentual dos mais baixos (2,6%), o que indica uma tendência de que em altos percentuais de PIS (3%) e na ausência de MTGase, caso dos ensaios Controle, há uma redução no encolhimento por cocção. Nesse sentido, os ensaios Controle se mostraram mais interessantes dentro das faixas estudadas para as variáveis, uma vez que o consumidor final deseja obter um produto que não tenha uma redução de tamanho após o cozimento. A percentagem de encolhimento está intimamente relacionada à quantidade e forma de ligação da água na matriz do alimento. No ensaio A10, que teve o maior conteúdo de umidade (79,9%), as quantidades de 0% de PIS e 0,75% MTGase (ingredientes capazes de favorecer a retenção de água na estrutura interna do produto) não foram suficientes para promover a ligação da água em altas temperaturas, resultando em maior encolhimento. Segundo Canto et al. (2014) a MTGase catalisa a ligação cruzada intraproteica e interproteica entre a glutamina e a lisina, promovendo a formação de uma rede e transformando a matriz do pescado em polímero de alto peso molecular, que retém as moléculas de água, melhorando o rendimento e, consequentemente diminuindo as perdas durante o processo de cocção. Paulo et al. (2015) elaborando *fishburger* com filé de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomus*) obteve percentual de encolhimento de $6,04 \pm 0,67\%$, e Baily et al. (2015) ao avaliar as propriedades físico-químicas e texturais de *fishburger* de tilápia observou percentual de encolhimento de $6,08 \pm 1,22\%$, próximo ao encontrado no ensaio A10. Outros autores relataram percentuais superiores de percentagem de encolhimento: 11,99% em *fishburger* de tilápia contendo na formulação 15% de água, 0% de fécula de mandioca e 1% de MTGase (Pinto, 2017); 3,7 a 7,9% em *fishburger* de peixe biquara (*Haemulon plumieri*) com adição de diferentes concentrações de farelo de trigo (Rául et al. 2018); 8,0 a 11% em *fishburger* grelhado a base de CMS de tilápia (Costa et al., 2019) e 4,03% a 9,33% em *fishburger* de tilápia do Nilo com incorporação de soro de leite, colágeno de pés de frango e farinha de taro (MACIEL et al., 2021).

No entanto, os resultados do presente estudo indicam que a PIS tem maior capacidade de impedir o encolhimento no cozimento que a MTGase.

A perda de peso por cocção (PPC) pode ser causada pela perda de água e lipídios durante o processo de cocção devido a baixas concentrações de ingredientes que retêm água ou que promovem a maior retenção de água pelas proteínas cárneas no produto. Essa capacidade das proteínas de reter água está associada à suculência e maciez, resultando em ótima textura nos produtos cárneos. Nos *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa os valores de PPC variaram de $7,89 \pm 2,21\%$ a $14,91 \pm 5,13\%$, ensaios A11 e A9, respectivamente. Para esse parâmetro verificou-se falta de homocedasticidade e o teste de Kuskal Wallis não detectou diferença significativa entre ensaios ($p=0,0507$). Observou-se uma tendência de menores percentuais para perda de peso por cocção nos ensaios que continham maiores quantidades de PIS. A presença da MTGase na concentração máxima no ensaio A9 não favoreceu a retenção de água no produto, pois segundo Gaspar & Góes-Favani (2015) quando a concentração da enzima atinge um determinado ponto em relação às proteínas miofibrilares, ela se torna inversamente correlacionada com a retenção de água, uma vez que, quanto maior a concentração da enzima, maior o número de ligações cruzadas que ela fará dentro da matriz proteica e menor a interação proteína-água. O mesmo comportamento foi relatado por Pinto (2017) em *fishburger* de tilápia, nas formulações onde as concentrações de fécula de mandioca eram maiores (8%). Oliveira, Cruz e Almeida (2012) utilizando polpa de tilápia (*Oreochromis niloticus*) em reestruturado, tipo almôndega, relataram que o tratamento com maior percentual de PIS (5%) apresentou menor percentual de perda de peso por cocção ($13,9 \pm 3,6$), superior ao encontrado nesse estudo, e condizente com o comportamento observado no ensaio A11, que continha maior percentual (3%) de PIS dos *fishburgers*. Oliveira et al. (2020) relataram PPC de 10% em *fishburgers* enriquecidos com água de lavagem de surimi e farinha de aveia. Resultados próximos aos encontrados no presente estudo foram relatados por Bainy et al. (2015) de 14,7% em *fishburgers* grelhados de tilápia. Perdas de peso superiores ao do presente estudo foram relatadas por Muzzolon et al. (2018), Costa et al. (2019) e Maciel et al. (2021)

em *fishburger* de tilápia do Nilo, com valores de 20%, 17,3% a 35,4% e 6,87% a 22,18%, respectivamente.

Determinação da cor instrumental

Os valores de L^* , a^* e b^* (dados não apresentados) dos *fishburgers* foram medidos em amostras descongeladas e cruas, e os valores de Croma (Tabela 17) (que indicam a saturação da cor) foram obtidos a partir da relação entre a^* e b^* , sendo o parâmetro que melhor reflete a cor real do alimento analisado.

Esta resposta (Croma) apresentou efeito significativo da variável PIS e da interação entre PIS $\times$ MTGase (**Tabela 18**), este efeito pode ser melhor visualizado no Diagrama de Pareto (**Figura 8**). Tanto a proteína isolada de soja (PIS) quanto a interação de PIS com a transglutaminase microbiana influenciaram positivamente a cor do produto (Croma).

Na análise estatística de um modelo ajustado aos dados experimentais, constatou-se que o modelo de primeira ordem apresentou um r^2 superior ao modelo de segunda ordem (**Tabela 19**), indicando que o modelo linear (equação 3) pode ser melhor preditivo que o quadrático.

A curva de contorno (**Figura 9**) gerada pelo modelo de primeira ordem (equação 3), mostra que quanto maior a concentração de PIS, mais intensa a cor do *fishburger*. Embora não seja significativa, nota-se (**Figura 8**) que o aumento da concentração de MTGase tem efeito negativo, por isso a interação entre elas (PIS $\times$ MTGase) é significativa, mas não influi tanto quanto a PIS.

Nas curvas de contorno isso é perceptível, pois, para toda a faixa de PIS estudada ocorreu uma coloração mais intensa, mas, na medida em que a MTGase aumenta, da metade para cima, a cor do produto começa a ser desfavorecida (**Figura 9**)

Figura 8 – Diagrama de Pareto dos efeitos de PIS, MTGase e interação PIS-MTGase (1by2) sobre a variável resposta Croma determinada em *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa obtidos a partir do fatorial completo 2^2

Figura produzida pelo *Software Statistica*, versão 13.5. Fonte: própria autoria.

Figura 9 – Curvas de Contorno geradas pelo modelo de primeira ordem que descreve a influência da PIS e da MTGase para o parâmetro Croma dos *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa

Figura produzida pelo *Software Statistica*, versão 13.5. Fonte: Própria autoria.

Raúl et al. (2018) trabalhando com *fishburgers* elaborados com filé de biquara (*Haemulon Plumierii*) constatou que formulações com maior percentual de farelo de trigo apresentaram maior índice de cor. Bainy et al. (2015) estudaram o efeito do cozimento na grelha nas propriedades físico-químicas e texturais do *fishburger* de tilápia do Nilo e concluíram que o método de cozimento não afetou a intensidade da cor.

Os valores obtidos para Croma também foram avaliados pela ANOVA para verificar diferenças entre médias e os resultados estão descritos na **Tabela 17** na qual podem ser observadas diferenças entre vários ensaios.

Os *fishburgers* do ensaio A11 apresentaram o maior valor de Croma (12,95) e os ensaios E2 (10,47) e A10 (10,87) os menores ($p < 0,05$). Pode ser observada uma tendência para maiores valores de Croma nos ensaios com maiores percentagens de PIS, provavelmente pela tonalidade amarelada deste ingrediente, o que se relaciona à afirmação de Pietrasik & Janz (2009), de que a cor dos produtos cárneos crus é definida pela concentração de mioglobina, conteúdo de gordura, água e ingredientes não cárneos. A MTGase não influenciou na cor dos produtos finais, como também observado por Canto et al. (2014) em bifes reestruturados crus de jacaré adicionados de MTGase. Estes resultados confirmam os dados encontrados na análise do delineamento experimental.

Valores de Croma superiores aos encontrados no presente estudo para *fishburgers* crus de tilápia foram mencionados por Bainy et al. (2015), Muzzolon et al. (2018) e Costa et al. (2019), $17,96 \pm 0,74$, $13,4$ a $14,8$ e $24,3$, respectivamente. Canto et al. (2014) trabalhando com bifes de jacaré reestruturados com baixo teor de sódio e MTGase relatam valores de $a^* = 5,84$ e $b^* = 8,65$. Para fins de comparação com esse estudo, foi realizado o cálculo do Croma, tendo como resultado o valor de $10,36$, de acordo com os ensaios que tiveram os menores valores de Croma no presente estudo. Freitas (2020) obteve valores de a^* e b^* , $3,13$ e $16,61$, respectivamente, para embutido tipo salsicha de CMS de tilápia do Nilo, em decorrência da adição de amido e farelo de resíduo de abacaxi, e para efeito de comparação o Croma resultante

calculado foi 16,90, também superior ao encontrado nessa pesquisa.

Análise sensorial dos *fishburgers*

Os resultados obtidos na análise sensorial dos *fishburgers* de lambari rosa estão apresentados na **Tabela 20**.

Para o atributo aceitação, designado como Impressão global na ficha de avaliação dos *fishburgers* foi obtida nota variando entre 6,1 equivalente a “Gostei levemente” para o ensaio E1, e 7,5 equivalente a “Gostei moderadamente a Gostei muito” para o ensaio PC7. Os *fishburgers* desses ensaios foram os únicos a apresentar diferença significativa ($p < 0,05$) entre si com relação a Impressão global. Pelos resultados obtidos, percebe-se que, ao aumentar os percentuais de PIS + MTGase de 0,66% (E1) para 2,25% (PC7) houve uma melhor aceitação dos *fishburgers* grelhados pelos avaliadores. O ensaio PC7 teve a melhor avaliação global entre os ensaios e quando comparado ao ensaio E1 pelos resultados da textura instrumental, esse ensaio obteve valores menores de dureza, gomosidade, coesividade e mastigabilidade, inferindo-se que os consumidores tenham preferência por formulações com percentuais médios da faixa estudada para MTGase e PIS. Resultado semelhante foi relatado por Raúl et al. (2018) em *fishburgers* de biquara, que quando aumentaram a concentração de farelo de trigo de 0% para 3%, obtiveram ligeira melhora da aceitação, de “nem gostei nem não gostei” para “gostei ligeiramente”. Oliveira et al. (2020) obtiveram nota inferior, 4 na escala hedônica de 5 pontos, “gostei moderadamente” em *fishburger* com proteína recuperada de surimi de tilápia; Costa et al. (2019) obtiveram nota igual, 7,5, “gostei ligeiramente” ao encontrado no presente estudo, em *fishburger* de CMS não lavada de tilápia, e Maciel et al. (2021), nota superior, 7,94 em *fishburger* de tilápia enriquecido com farinha de taro, equivalendo a entre "gosto moderadamente" e "gosto muito" na escala hedônica.

Para os atributos avaliados em escala do ideal de 7 pontos, onde o valor 4 é o ideal, verifica-se na **Tabela 20** que as diferenças entre os *fishburgers* dos

diferentes ensaios foram pouco significativas em termos gerais e todos ficaram relativamente próximos do ideal, encontrando-se como valores mais distantes de 4,0 o valor de 5,1 para os *fishburgers* do ensaio E4 em Mastigabilidade e o valor 3,1 para os *fishburgers* do ensaio E3 em Maciez.

No parâmetro Maciez, os *fishburgers* do ensaio E2 foram percebidos como “ligeiramente mais macios que o ideal” com nota 4,4; e o ensaio E3, como “ligeiramente menos macios que o ideal”, com nota 3,1; apenas entre esses ensaios houve diferença significativa na percepção da Maciez pelos avaliadores ($p < 0,05$).

Os valores obtidos para Suculência foram avaliados pela ANOVA para verificar diferenças entre médias e os resultados estão descritos na **Tabela 20** na qual podem ser observadas diferenças entre vários ensaios.

Para Suculência, os *fishburgers* do ensaio E3 foram percebidos como “ligeiramente menos suculentos que o ideal” obtendo nota 3,5; e os *fishburgers* do ensaio A10 como “mais suculentos que o ideal”, com valor 4,7, confirmando os efeitos determinados no delineamento experimental. No ensaio E3, a soma dos percentuais de PIS + MTGase resultaram em 2,78%, sendo 2,56% de PIS, e havia menor umidade e menor percentual de gordura, o que não favoreceu a uma maior maciez e suculência. No ensaio A10, o percentual de PIS utilizado foi 0% e metade do percentual máximo de MTGase, 0,75. Esse ensaio além de ter sido favorecido pela MTGase aumentando a interação na estrutura proteica, favorecendo a retenção de água, também apresentou um dos maiores percentuais de lipídios e maior umidade na formulação.

Na análise estatística que avaliou a interferência das variáveis, quantidade de PIS, de MTGase e da interação entre elas na Suculência, constatou-se que ambas interferiram nesta resposta, mas não a interação entre elas (Tabela 18). Os efeitos principais podem também ser visualizados no Diagrama de Pareto (**Figura 10**). No qual se observa que houve efeito antagônico da concentração de PIS nesse intervalo estudado, indicando que as maiores concentrações de proteína levaram à perda de suculência sensorial, enquanto que as maiores concentrações de transglutaminase levaram à maiores

notas de suculência sensorial, ou seja, apresentou um efeito sinérgico.

Figura 10 – Diagrama de Pareto dos efeitos de PIS, MTGase e interação PIS-MTGase (1by2) sobre a variável resposta e parâmetro da análise sensorial Suculência determinada em *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa obtidos a partir do fatorial completo 2^2

Figura produzida pelo *Software Statistica*, versão 13.5. Fonte: própria autoria.

Na **Tabela 19**, a ANOVA dos modelos de primeira e segunda ordem indica que o modelo linear (equação 4) apresentou um coeficiente de correlação (r^2) de 0,96, enquanto o modelo quadrático, apresentou um valor menor ($r^2 = 0,69$). Assim o modelo de primeira ordem foi usado para gerar as curvas de contorno (**Figura 11**). O alto valor do coeficiente do modelo linear ($r^2=0,96$) explica o processo, sendo o valor de $F_{\text{calculado}} (25,78) > F_{\text{tabelado}} (9,28)$, dando confiabilidade para construir as curvas de contorno. As curvas de contorno mostraram que maiores concentrações de MTGase e menores de PIS geram maior Suculência.

Figura 11 – Curvas de Contorno geradas pelo modelo de primeira ordem que descreve a influência da PIS e da MTGase para o parâmetro da análise sensorial Suculência, avaliada em *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa

Figura produzida pelo *Software Statistica*, versão 13.5. Fonte: própria autoria.

Cunha (2010) avaliou a aplicação de 0,5% a 1,0% de MTGase em medalhões obtidos a partir de aparas da indústria do salmão, e observou que o uso da enzima favoreceu ao aumento da suculência desses produtos, bem como aumentou a firmeza e reduziu o percentual de encolhimento e perda de peso na cocção. Galvão (2016) relatou que a suculência de salsichas a base de CMS de frango e suínos diminuiu quando se reduziu o sódio na formulação.

Para Gomosidade os valores variaram entre 3,6 e 4,2 e não foi detectada diferença significativa entre os *fishburgers* dos diferentes ensaios. No parâmetro Mastigabilidade os *fishburgers* dos ensaios PC5 e PC7 receberam valores 3,9 e 4,0 respectivamente, e, portanto, os consumidores indicaram que não precisariam mastigar nem menos nem mais que o ideal antes de engolir. Tais amostras diferiram ($p < 0,05$) das do ensaio E4, com nota de 5,1, para as quais, segundo os consumidores, seria necessária mais força que o ideal para mastigar a amostra antes de ser engolida. Este último ensaio continha a maior soma de

PIS + MTGase, 3,84%, e consequentemente menores percentuais de CMS, umidade e lipídios, favorecendo a uma maior dureza e necessidade de maior força para mastigar o alimento.

Corroborando com esses resultados, Costa et al. (2019) também relataram maior maciez e maior suculência em *fishburgers* a base de CMS não lavada onde o teor de lipídios e umidade foram maiores. Raúl et al. (2018) relataram que, em seus *fishburgers* de biquara, houve um aumento da maciez e da mastigabilidade quando aumentou-se a concentração de farelo de trigo. Macari (2007) trabalhando com embutidos cozidos do tipo salsicha, de tilápia do Nilo adicionados de MTGase, relatou maior suculência em tratamentos com 0,5% de MTGase obtendo nota 5,73 na escala do ideal, superior ao encontrado nesse estudo.

A análise em conjunto dos valores absolutos nas notas atribuídas à Impressão global e Escala do ideal indica que os *fishburgers* dos ensaios PC e Controle foram os que mais agradaram os avaliadores, deste modo verifica-se que valores intermediários de MTGase e PIS ou valores altos de PIS e ausência de MTGase, respectivamente, são as melhores opções para formulação de *fishburgers* de CMS de lambari.

Alguns comentários como “muito picante” e “arenosidade” foram relatados por alguns avaliadores sobre os *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa. A sensação de picância pode estar relacionada com a mudança da formulação, do Estudo 1 para o Estudo 2, no qual foi reduzido o percentual de sal e gordura vegetal, acentuando a percepção dos avaliadores da pimenta branca em pó. Quanto à arenosidade, pode ser justificada devido a presença de microfragmentos ósseos que não foram eliminados durante o despolpamento do lambari corpo limpo e processamento da CMS, uma vez que a mesma não foi lavada, e no processo de lavagem esses fragmentos são parcialmente removidos. A sensação de arenosidade também foi descrita por Macari (2007) em embutidos cozidos de tilápia e por Freitas (2020) em embutido tipo salsicha de CMS de tilápia do Nilo com adição de farinha do resíduo do processamento de abacaxi.

Tabela 20 – Valores (média $\pm$ desvio padrão – $n \geq 3$) dos parâmetros sensoriais - Maciez, Suculência, Gomosidade, Mastigabilidade e Impressão global, obtidos na análise de *fishburgers* de CMS de lambari rosa elaborados com diferentes concentrações de proteína isolada de soja (PIS) e transglutaminase microbiana (MTGase)

Ensaio	PIS + TG (%)	Maciez ¹	Suculência ¹	Gomosidade ¹	Mastigabilidade ^{1*}	Impressão Global ²
E1	0,44 $\pm$ 0,22	3,4 $\pm$ 1,46 ^{ab}	4,4 $\pm$ 1,23 ^{abc}	3,8 $\pm$ 1,69	4,8 $\pm$ 1,38 ^{ab}	6,1 $\pm$ 1,72 ^b
E2	0,44 $\pm$ 1,28	4,4 $\pm$ 1,33 ^a	4,5 $\pm$ 0,93 ^{ab}	4,0 $\pm$ 1,17	4,5 $\pm$ 0,96 ^{ab}	7,1 $\pm$ 1,09 ^{ab}
E3	2,56 $\pm$ 0,22	3,1 $\pm$ 1,15 ^b	3,5 $\pm$ 1,00 ^c	3,6 $\pm$ 1,43	4,4 $\pm$ 1,50 ^{ab}	6,1 $\pm$ 2,02 ^{ab}
E4	2,56 $\pm$ 1,28	3,4 $\pm$ 1,18 ^{ab}	4,1 $\pm$ 1,28 ^{abc}	4,1 $\pm$ 1,36	5,1 $\pm$ 1,08 ^a	6,5 $\pm$ 1,46 ^{ab}
PC5	1,50 $\pm$ 0,75	4,3 $\pm$ 1,24 ^a	4,1 $\pm$ 1,02 ^{abc}	4,1 $\pm$ 1,31	3,9 $\pm$ 1,15 ^b	7,3 $\pm$ 1,27 ^{ab}
PC7	1,50 $\pm$ 0,75	4,2 $\pm$ 1,02 ^{ab}	4,2 $\pm$ 0,97 ^{abc}	4,2 $\pm$ 0,83	4,0 $\pm$ 0,82 ^b	7,5 $\pm$ 1,41 ^a
A8	1,50 $\pm$ 0,00	3,8 $\pm$ 1,07 ^{ab}	4,3 $\pm$ 1,10 ^{abc}	3,9 $\pm$ 1,21	4,3 $\pm$ 1,25 ^{ab}	7,2 $\pm$ 1,36 ^{ab}
A9	1,50 $\pm$ 1,50	3,6 $\pm$ 1,18 ^{ab}	3,6 $\pm$ 0,81 ^{bc}	3,9 $\pm$ 1,25	4,2 $\pm$ 1,31 ^{ab}	6,8 $\pm$ 1,73 ^{ab}
A10	0,00 $\pm$ 0,75	3,7 $\pm$ 1,23 ^{ab}	4,7 $\pm$ 1,33 ^a	4,1 $\pm$ 1,34	4,6 $\pm$ 1,21 ^{ab}	6,5 $\pm$ 1,77 ^{ab}
A11	3,00 $\pm$ 0,75	3,7 $\pm$ 1,43 ^{ab}	3,7 $\pm$ 1,27 ^{bc}	4,2 $\pm$ 1,27	4,4 $\pm$ 1,20 ^{ab}	6,7 $\pm$ 1,54 ^{ab}
C1	3,00 $\pm$ 0,00	3,9 $\pm$ 1,15 ^{ab}	4,0 $\pm$ 1,14 ^{abc}	4,1 $\pm$ 1,22	4,2 $\pm$ 1,19 ^{ab}	7,3 $\pm$ 1,31 ^{ab}
C2	3,00 $\pm$ 0,00	3,8 $\pm$ 0,98 ^{ab}	4,0 $\pm$ 1,18 ^{abc}	4,2 $\pm$ 1,09	4,3 $\pm$ 0,94 ^{ab}	6,9 $\pm$ 1,24 ^{ab}

¹ – Parâmetros medidos em escala do ideal com 7 pontos; 4 = ideal; ² – Parâmetro medido em escala hedônica de 9 pontos; ^{a,b} Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes a $p < 0,05$ pelo teste de Tukey para Maciez e Suculência e para Mastigabilidade e Impressão Global pelo teste de Kruskal Wallis; Fonte: própria autoria.

5.2.8 Análise de penalidades para os atributos sensoriais dos *fishburgers* de lambari rosa

A metodologia de *Penalty Analysis* ou análise de penalidades é utilizada para a identificação de potenciais direções para a melhoria de um produto. São utilizados os dados de aceitação que expressam a satisfação global do consumidor em relação a um produto. Esta metodologia é chamada de análise de penalidade porque quantifica o efeito da queda da média hedônica para aqueles atributos que não estejam na intensidade desejada pelo consumidor para um determinado produto (DUTCOSKY, 2019). A análise de penalidades se baseia apenas nos dados obtidos de aceitação e escala do ideal de parâmetros sensoriais correspondentes ao produto a ser otimizado (PAGÈS et al., 2014), assim comparações entre diferentes produtos podem ser feitas apenas após as análises.

Desse modo, a combinação dos dados obtidos nesse estudo na análise sensorial utilizando a escala do ideal para parâmetros relacionados à textura e o teste de hedônico permite identificar os parâmetros para cada ensaio que podem ser melhorados a fim de aumentar a aceitação do produto. Para avaliação dos *fishburgers* com diferentes percentuais de PIS e MTGase na faixa estudada dos ensaios, foram avaliados os parâmetros maciez, suculência, gomosidade e mastigabilidade, avaliados em escala do ideal. Os dados foram analisados no software estatístico XLSTAT, o qual gerou gráficos de barras para cada ensaio, sendo as barras em vermelho a representação da ocorrência de penalidade em relação a nota considerada ideal e significativamente diferentes de 0 a nível de 5% de significância; as barras verdes representam a inexistência de penalidade para o parâmetro, mesmo com certa diferença do esperado (penalidade não é significativamente diferente de 0, a 5% de significância); as barras em cinza indicam que não houve respostas suficientes para o cálculo das diferenças.

Os parâmetros que prejudicaram a aceitação do *fishburger* foram diferentes nos ensaios, tendo uma pontuação de penalidade, ou queda média,

variando entre 1 e 2,5. As **Figuras 12A, 12B e 12C** mostram os parâmetros que diminuíram a aceitação dos *fishburgers* de CMS de lambari rosa.

No parâmetro Maciez, excluindo-se os *fishburgers* dos ensaios E1 e PC7, todas as amostras, incluindo o controle (C1 e C2) foram altamente penalizadas por apresentar maciez a mais do que o considerado ideal pelo consumidor ($p < 0,05$), com quedas médias variando entre 1 e 2,5. O parâmetro Maciez se mostra como extremamente importante para a aceitação, pois verifica-se que a mesma cai para *fishburgers* mais duros, porém consumidores que acharam as amostras mais macias que o ideal, diminuíram de forma significativa as notas de Impressão global.

Quanto à Suculência, não houve diferença significativa nas quedas médias para os *fishburgers* dos ensaios E1, E3, A8, A10, A11, PC7 e C2. No entanto, os *fishburgers* dos ensaios E4, A9, PC5 e C1 são altamente penalizados pela Suculência quando maior que o suficiente, com quedas médias entre 1,5 e 2,5.

Para Gomosidade, os *fishburgers* dos ensaios A8, A9, PC7 e C2 foram penalizados quando essa característica foi maior que o suficiente. Para os demais ensaios não houve diferença significativa nas quedas médias, portanto o ideal é que o *fishburger* não seja mais gomoso que o esperado comparando com as formulações ideais.

Quanto à Mastigabilidade, os *fishburgers* dos ensaios A8, A9 e A10 foram penalizadas tanto pela Mastigabilidade insuficiente quanto mais do que o suficiente. Para as formulações E2, E3, E4, PC5, PC7 e C1 a Mastigabilidade menor que o ideal penalizou fortemente as formulações, com quedas médias entre 1,5 e 2. Para E1, A11 e C2, as diferenças das quedas médias não foram significativas, assim essas amostras não foram penalizadas.

Portanto, pode-se concluir pelos resultados da análise de penalidades que, o consumidor não espera que o *fishburger* seja demasiadamente macio, talvez comparando-o a maciez de um hambúrguer tradicional, assim como rejeita o produto quando a suculência excede o desejável. A partir desses resultados conclui-se que, para *fishburgers* a base de CMS de lambari rosa, deve-se evitar

a utilização de altas concentrações de MTGase associadas a valores baixos de PIS, com o objetivo de melhorar a aceitação do produto.

Corroborando com os resultados da análise de penalidades desse estudo, Canto et al. (2014) também concluíram pela análise de penalidades que diminuir o percentual de MTGase e sódio aumentaria a aceitabilidade dos bifes reestruturados de jacarés. Galvão (2016) analisando salsichas a base de CMS de frango, carne suína e diferentes percentuais de sódio relatou que a análise de penalidades indicou a necessidade de redução de sódio e ajuste da textura das salsichas.

Figura 12 – Gráficos obtidos na análise de penalidades dos parâmetros da análise sensorial dos *fishburgers* de CMS de lambari rosa dos diferentes ensaios. **A)** Ensaios E1, E2, E3 e E4; **B)** Ensaios A8, A9, A10 e A11; **C)** Ensaios C1, C2, PC5 e PC7

A)

Gráficos produzidos pelo *Software XLSTAT*, versão 2019.3.1. Fonte: própria autoria

B)

Gráficos produzidos pelo *Software XLSTAT*, versão 2019.3.1. Fonte: própria autoria

C)

Gráficos produzidos pelo *Software XLSTAT*, versão 2019.3.1. Fonte: própria autoria.

5.2.9 Análise de correlação de Pearson e Análise de Fatores Múltiplos (MFA)

A qualidade sensorial de um produto deve ser determinada por meio de testes sensoriais, e nenhum instrumento, nem combinações de instrumentos podem substituir plenamente os sentidos humanos. Entretanto, é interessante correlacionar medidas instrumentais com sensoriais para melhor controlar a qualidade de um produto ((DUTCOSKY, 2019).

A **Tabela 21** mostra os resultados da análise de correlação de Pearson entre os parâmetros que apresentaram diferença significativa entre os *fishburgers* dos diferentes ensaios.

Verifica-se que há uma alta correlação positiva entre os parâmetros da Textura instrumental (Dureza, Mastigabilidade e Gomosidade). É interessante observar que a Dureza instrumental esteve negativamente correlacionada com a Aceitação Sensorial ($r = -0,60$). A Aceitação Sensorial também esteve positivamente correlacionada com a Maciez ($r = 0,859$) e negativamente correlacionada com a Mastigabilidade Sensorial ($r = -0,699$). Tais resultados indicam que a Aceitação Sensorial é maior para as amostras mais macias, sendo necessário menos esforço no momento da mastigação.

Assim como nesse estudo, Canto et al. (2014) obtiveram correlações entre parâmetros sensoriais e instrumentais estudando bifes reestruturados de jacaré adicionados de MTGase e substitutos de sal, tais como dureza instrumental do produto cozido e dureza sensorial e coesão sensorial e dureza sensorial. Picardo (2019) verificou que em surimi de diferentes espécies de peixes havia forte correlação positiva entre o teor de proteína e a firmeza do produto. Este resultado tem relação como obtido no presente estudo em que os valores absolutos mais altos de dureza instrumental foram encontrados nos *fishburgers* dos ensaios E3, E4 e A9 que continham altas percentagens de PIS ou combinação de valores intermediários de PIS e MTGase.

Tabela 21 – Resultados da Análise de correlação de Pearson entre os parâmetros que apresentaram diferenças significativas nos *fishburgers* dos diversos ensaios

Parâmetro	Croma	Dureza*	Gomosidade*	Coesividade*	Elasticidade*	Mastigabilidade*	Maciez AS	Suculência AS	Mastigabilidade AS	Aceitabilidade AS	Encolhimento
Croma	1,0000										
Dureza*	p= ,4308	1,0000									
Gomosidade*	p=,186 ,4234	p= ,9905	1,0000								
Coesividade*	p=,194 ,2226	p=,000 ,6523	p= --- ,7476	1,0000							
Elasticidade*	p=,511 ,3713	p=,030 ,1984	p=,008 ,2703	p= --- ,4519	1,0000						
Mastigabilidade*	p=,261 ,4709	p=,559 ,9437	p=,421 ,9723	p=,163 ,7966	p= --- ,4836	1,0000					
Maciez AS	p=,144 -0,517	p=,000 -0,576	p=,000 -0,537	p=,003 -0,196	p=,132 0,149	p= --- -0,457	1,0000				
Suculência AS	p=,104 -0,711	p=,064 -0,438	p=,089 -0,424	p=,564 -0,168	p=,662 -0,583	p=,158 -0,524	p= -0,440	1,0000			
Mastigabilidade AS	p=,014 0,132	p=,178 0,582	p=,193 0,541	p=,621 0,240	p=,060 -0,572	p=,098 0,353	p=,175 0,598	p= -0,229	1,0000		
Aceitabilidade AS	p=,700 -,2391	p=,061 -,6080	p=,086 -,5763	p=,477 -,3129	p=,066 ,2699	p=,288 -,4558	p=,052 0,859	p=,498 0	p= -0,699	1,0000	
Encolhimento	p=,479 -,3747	p=,047 ,2430	p=,063 ,3269	p=,349 ,6974	p=,422 ,1898	p=,159 ,3408	p=,001 0,108	p=,609 0,351	p=,017 0,147	p= 0,258	1,0000
	p=,256	p=,471	p=,326	p=,017	p=,576	p=,305	p=,752	p=,290	p=,666	p=,444	p= ---

*Parâmetro do perfil de textura. AS: parâmetro da análise sensorial. Fonte: própria autoria.

A Análise de Fatores Múltiplos (MFA) é útil para analisar simultaneamente várias tabelas de variáveis e obter resultados, principalmente gráficos, que permitem estudar a relação entre as observações, as variáveis e as tabelas. Dentro de uma tabela, as variáveis devem ser do mesmo tipo (quantitativas ou qualitativas), mas as tabelas podem ser de tipos diferentes. Neste estudo a MFA foi aplicada a quatro tipos de variáveis que apresentaram diferenças significativas entre os diferentes ensaios: os parâmetros de textura (Dureza, Mastigabilidade, Gomosidade e Elasticidade), os parâmetros sensoriais (Impressão Global/Aceitabilidade, Maciez, Suculência e Mastigabilidade), o parâmetro de cor Croma e o parâmetro % de encolhimento (**Figura 13**).

Os fatores F1 + F2 da MFA explicaram 71,62% da variância total entre as amostras de *fishburgers* dos diferentes ensaios, sendo que o F1 contribuiu com 40,10% da variabilidade e o F2 com 31,52%, o que permite verificar tendências de correlações a partir dos gráficos produzidos na análise.

Percebe-se pelo gráfico da **Figura 13(a)** que há uma alta correlação positiva entre os parâmetros da Dureza, Mastigabilidade e Gomosidade da textura instrumental visto que se encontram bastante próximos e com grande projeção no F1; também há uma correlação negativa entre Maciez e Mastigabilidade, e entre a Maciez e a Dureza. Ao contrário é visível no gráfico a oposição da Aceitabilidade em relação aos parâmetros Mastigabilidade, Dureza e Gomosidade. Tais observações retratam os resultados da análise de correlação de Pearson.

Na **Figura 13(b)** é possível verificar que os *fishburgers* dos ensaios PC7 e A8, e em menor grau os do PC5 e Controles, foram as mais relacionadas com o parâmetro Aceitação e em contraste as amostras de *fishburgers* dos ensaios E1, E4 e A9 foram as menos aceitas. Tais resultados indicam que *fishburgers* com percentagens intermediárias de proteína isolada de soja (1,5% PIS) e intermediárias de transglutaminase (0,75% MTGase) ou mesmo sem utilização de MTGase atingiram maior aceitabilidade.

Assim como no presente estudo, Galvão (2016) analisando o perfil sensorial através de teste de aceitação e metodologia *Check All That Apply*

(CATA) em salsichas reformuladas de CMS de frango e carne suína com teores reduzidos de sódio também relatou que a MFA explicou 71,62% da variabilidade dos dados experimentais da sua pesquisa, sendo que F1 explicou cerca de 45% e F2, 27%. Costa et al. (2019) avaliando a potencialidade da CMS de tilápia do Nilo para *fishburgers* relataram correlação superior ao encontrado no presente estudo: 86,2% (67,6%+18,6%) para a aceitação sensorial correlacionada com o perfil sensorial dos *fishburgers* e 77,8% (45,2%+32,6%) para aceitação sensorial correlacionada com as propriedades físicas dos *fishburgers* de tilápia.

Figura 13 – Gráficos obtidos da Análise de Fatores Múltiplos (MFA): (a) – representação dos parâmetros analisados nos *fishburgers* dos diferentes ensaios em relação aos fatores F1 e F2; (b) – representação do posicionamento dos *fishburgers* em relação aos fatores

Gráficos produzidos pelo Software XLSTAT, versão 2019.3.1. Fonte: própria autoria.

5.2.10 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos *fishburgers* de lambari rosa

As imagens obtidas na Microscopia Eletrônica de Varredura dos ensaios dos *fishburgers* podem ser observadas nas **Figuras 14 e 15**.

As imagens indicam uma estrutura descontínua quando comparadas as formulações que há maior presença de PIS e MTGase. Entretanto, pode ser observado que, os *fishburgers* dos ensaios E2 e A9, **Figura 14**, ensaios com alto percentual de MTGase, 1,28 e 1,5%, respectivamente, apresentaram células maiores, identificadas como orifícios de ar distribuídos na matriz proteica pela ação rápida da MTGase na massa cárnea durante a mistura, o que promoveu a incorporação de ar. Segundo Gaspar & Goés-Favani (2015) o percentual de MTGase adicionado em formulações deve ser avaliado com rigor, pois em concentrações adequadas, MTGase produz géis com maior porosidade que são capazes de imobilizar a água de forma mais eficiente.

Nas micrografias dos *fishburgers* dos ensaios A11 e C, correspondentes ao ponto axial e formulação controle, respectivamente, observa-se células menores e porosidade mais homogênea e bem estruturada, o que pode ser justificado pela presença dos maiores percentuais de PIS (3%) em tais formulações.

Nas micrografias dos *fishburgers* dos ensaios PC5 e C (controle), **Figura 15**, correspondentes ao ponto central e o controle, respectivamente, com aumento de 500x, revelaram imagens de fragmentos ósseos e/ou espinhos, os quais estão presentes nas amostras de todos os ensaios, uma vez que a CMS utilizada foi a mesma para todos as formulações. Tais fragmentos não representam risco à saúde por estarem em dimensão aproximada de 200 a 400µm, porém são responsáveis pela percepção de arenosidade relatada por alguns consumidores que realizaram a análise sensorial. A presença de glóbulos de gordura também foi percebida em algumas micrografias, **Figura 15**, o que pode indicar a necessidade de aumento no tempo de homogeneização da massa para uma melhor incorporação da gordura na matriz proteica.

Signor (2018) trabalhando com empanados a base de CMS de tilápia do Nilo adicionados de 1,5% de amido e 1,0% dextrina na formulação, observou que tais ingredientes favoreceram a formação de rede na matriz proteica, resultando numa estrutura mais homogênea. Fogaça (2009) relatou rede proteica irregular, orifícios de ar e presença de glóbulos de gordura em microestruturas de gel de surimi de tilápia em formulações que foram adicionadas de amido.

Figura 14 – Micrografias de *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa dos ensaios E2, A9 e A11

1: orifícios de ar; Imagens produzidos por microscópio (Hitachi TM3000). Fonte: própria autoria.

Figura 15 – Micrografias de *fishburgers* elaborados com CMS de lambari rosa dos ensaios PC5 e C

2: glóbulos de gordura; 3: fragmentos ósseos; Imagens produzidos por microscópio (Hitachi TM3000). Fonte: própria autoria.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que, a carne mecanicamente separada não lavada do lambari rosa constitui uma alternativa viável de matéria-prima na elaboração de *fishburgers*, valorizando a utilização espécies de pequeno porte da aquicultura brasileira na alimentação humana. A coloração rosada da CMS de lambari rosa favoreceu sensorialmente a aceitação dos *fishburgers* em comparação à CMS obtida do lambari do rabo amarelo, utilizada em estudos anteriores do grupo de pesquisa. A coloração atrativa da CMS do lambari rosa dispensou a necessidade de lavagem, o que pode ter contribuído para resultados sutis no planejamento experimental. O DCCR foi usado para avaliar a influência dos percentuais de PIS, MTGase e da interação nas respostas do produto; Entretanto, as faixas estudadas não apresentaram efeitos significativos, exceto na Cor (croma) e Suculência (AS); Altos % de PIS favoreceu a cor do produto, e altos % MTGase interferiu positivamente na suculência; Formulações com % médios de MTGase e altos % de PIS foram melhores aceitas pelos avaliadores; O percentual de proteína inferior ao exigido na legislação para hambúrguer encontrado nos *fishburgers* elaborados nesse estudo, mostra a necessidade de uma legislação própria para produtos oriundos do pescado. Apesar da CMS ser muitas vezes obtida na indústria para o aproveitamento de aparas do pescado, esse estudo mostrou que também é possível utilizar a tecnologia de produção de CMS para a produção de alimentos a partir do uso integral de espécies de pequeno porte, valorizando uma matéria-prima alternativa, a agricultura familiar e diversificando os produtos de pescado nas gôndolas de supermercados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIMORAD, E. G.; CASTELLANI, D. Exigências nutricionais de aminoácidos para o lambari-do-rabo amarelo baseadas na composição da carcaça e do músculo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.37, n. 1, p. 31-38, 2011.
- ALFARO, B.; HERNANDEZ, I. Evolution of the indigenous microbiota in modified atmosphere packaged Atlantic horse mackerel (*Trachurus trachurus*) identified by conventional and molecular methods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, n. 2, p. 117–123, 2013.
- ALI, H. A et al. Evaluation of tilapia fish burgers as affected by different replacement levels of mashed pumpkin or mashed potato. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 18, p. 127-132, 2019.
- ANDO, H. et al. Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 2613–2617, 1989.
- AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 18th edition, Washington DC, 2005.
- ARTHUR, C. L.; PAWLISZYN, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Analytical Chemistry**, v. 62, n. 19, p. 2145–2148, 1990.
- BAINY, E. M.; BERTAN, L. C.; CORAZZA, M. L.; LENZI, M. K. Effect of grilling and baking on physicochemical and textural properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fishburger. **Journal Food Science and Technology**, v. 52, n. 8, p. 5111-5119, 2015.
- BELUSSO, A. C. et al. Check all that apply (CATA) as an instrument for the development of fish products. **Food Science and Technology**, v. 36, p. 275-281, 2016.
- BERNADINO FILHO, R.; ALMEIDA XAVIER, L. C. Obtenção, rendimento e caracterização de CMS produzida com resíduos da filetagem de Tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 9, n. 2, p. 01–04, 27 dez. 2019.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **The Canadian Journal of Biochemistry**, v. 37, p. 911–917, 1959.
- BOCHI, V. C. et al. Fishburgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting residue. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 18, p. 8844–8849, 1 dez. 2008.
- BONDAD-REANTASO, M.G. et al. Viewpoint: SARS-CoV-2 (the cause of COVID-19 in humans) is not known to infect aquatic food animals nor contaminate their products. **Asian Fisheries Science**, n.33, p. 74–78 (online), 2020.
- BORDIGNON, A. C. et al. Elaboração de croquete de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a partir de CMS e aparas do corte em “V” do filé e sua

avaliação físico-química, microbiológica e sensorial. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v.32, n. 1, p. 109-116, 2010.

BORGES, Â. D. S. et al. Medições instrumentais e sensoriais de dureza e suculência na carne caprina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.4, p. 891-896, 2006.

BOURNE, M. C. Texture, Viscosity, and Food. In: **Food texture and viscosity: concept and measurement**. 416p. 2nd ed. Academic Press: London. p. 1-32, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado). Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997**. Brasília, Distrito Federal, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de hambúrguer. Instrução Normativa Nº 20, de 31 de Julho de 2000**. Brasília, Distrito Federal, 2000a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada (CMS) de aves, bovinos e suínos. Instrução Normativa nº 4 de 31 março de 2000**, 2000b.

BRASIL. **Resolução De Diretoria Colegiada - RDC Nº 12, de 2001. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União**, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA, 1952. Decreto nº 9.013, de 29 de março, 2017**. Brasília, Distrito Federal, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução De Diretoria Colegiada – RDC, Instrução Normativa Nº 60 de 23 de dezembro de 2019, Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Brasília, Distrito Federal, 2019.

BREDA, L. S. et al. Acceptance of fish hamburgers in school meals in the Southwest Region of Paraná, Brazil. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 94-100, 2017.

CALDER, P. C.; YAQOOB, P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and human health outcomes. **BioFactors**, v. 35, n. 3, p. 266–272, 1 maio 2009.

CALDAS, K. D. P. P.; SANTOS, P. R. B.; ATAYDE, H. M.. Patê de peixe usando resíduos da indústria pesqueira amazônica: produção e aceitação. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v.9, n.6, p.188-198, 2018.

- CANTO, A. C. V. C. S. et. al. Physico-chemical and sensory attributes of low-sodium restructured caiman steaks containing microbial transglutaminase and salt replacers. **Meat Science**, v.96, n.1, p. 623-632, 2014.
- CHEN, C. et al. Texture enhancement of salted Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) roe using microbial transglutaminase. **Food Chemistry**, v. 290, p. 196–200, 30 ago. 2019.
- COELHO, G. M. et al. Effects of Starch Properties on Textural Characteristics of Fish Burgers: Sensory and Instrumental Approaches. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 37–50, 2007.
- CONTRERAS-GUSMÁN, E. S. Composição química de peixes, crustáceos e moluscos. In: **Bioquímica de pescados e derivados**, 409p.. p. 47–72, 1994a.
- CONTRERAS-GUSMÁN, E. S. Deterioração do frescor. In: **Bioquímica de pescados e derivados**, 409p. p. 225 – 313, 1994b.
- CORRÊA, C. F. et al. Dietary lipid sources affect the performance of Nile tilapia at optimal and cold, suboptimal temperatures. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 5, p. 1016–1026, 1 out. 2017.
- COSTA, J. F.; NOGUEIRA, R. I.; FREITAS-SÁ, D. D. G. C.; FREITAS, S. P. Utilização de carne mecanimante separada (CMS) de tilapia na elaboração de farinha com alto valor nutricional. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 42, n. 3, p. 548-565, 2016.
- COSTA, D. P. S. da; GONÇALVES, T. M. V.; CONTI-SILVA, A. C. Potentiality of using mechanically separated meats of nile tilapia in fishburgers: chemical, physical and sensory characterization. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62, p. 1–12, 2019.
- COSTA, D. P. S. da. **Desenvolvimento de hambúrguer com carne mecanicamente separada de carcaça e de refil de tilápia: caracterização, microbiológica, físico-química e sensorial**. Tese, 93p. Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2017.
- CUNHA, A. C. **Avaliação dos efeitos da aplicação de transglutaminase no processamento de medalhões de salmão**. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 82p. 2010.
- DE LUCENA, C. A. S.; SOARES, H. G. Review of species of the *Astyanax bimaculatus* “caudal peduncle spot” subgroup sensu Garutti & Langeani (*Characiformes*, *Characidae*) from the rio la Plata and rio São Francisco drainages and coastal systems of southern Brazil and Uruguay. **Zootaxa**, v. 4072, n. 1, p. 101–125, 2016.
- DONDERO, M. et al. Transglutaminase effects on gelation capacity of thermally induced beef protein gels. **Food Chemistry**, v. 99, n. 3, p. 546–554, 2006.
- DUARTE, C. V.; VIEIRA, R. P.; GHERARDI, S. R. M. Fishburguers de tilapia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) com e sem adição de fumaça líquida. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 11, n. 2, p. 2382–2396, 2017.

DURMUS, M. et al. Influence of olive oil–based nanoemulsion on the fatty acid profiles of rainbow trout fillets. **Aquaculture International**, v. 28, n. 5, p. 1997–2014, 2020.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**, 5 ed. rev. – Curitiba, PUCPRESS, 540p. 2019.

ESTANECH, A. D. **Desenvolvimento de patê da pescada-bicuda (*Sphyaena tome*, Fowler, 1903) com propriedades funcionais para diversificação e agregação de valor**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2018.

FEIDEN, A. et al. Rendimento e análise bromatológica do lambari do rabo vermelho *Astyanax* sp. F (Pisces: characidae) submetido ao processo de defumação. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 4, p. 859–866, 2009.

FOOD AND DRUGS AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. In brief. Sustainability in action**. Rome, Italy, 2020a.

FOOD AND DRUGS AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. **Summary of the impacts of the COVID-19 pandemic on the fisheries and aquaculture sector: Addendum to the State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome, Italy, 2020b.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS e WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION - FAO/WHO. **Draft revised standard for quick frozen blocks of fish fillets, minced fish flesh and mixtures of fillets and minced fish flesh (Appendix IV)**. Codex Alimentarius Commission, report of the 21st Session the Codex Committee on Fish and Fishery Products. Roma, p.47-57, 1994.

FOGAÇA, F. H. dos S. et al. Caracterização de surimi obtido a partir da carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo e elaboração de fishburger. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 765–776, 2015.

FOGAÇA, F. H. dos S. **Caracterização do surimi de tilápia do Nilo: morfologia e propriedades físicas, químicas e sensoriais**. Tese (Doutor em Aquicultura), Universidade Estadual Paulista, UNESP/SP, Jaboticabal, 20019.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.

FREITAS, S. J. **Embutido tipo salsicha de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) com adição de farinha do resíduo do processamento de abacaxi**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, p. 69, Rio de Janeiro, 2020.

GARUTTI, V., BRITSKI, H. A. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (*Teleostei: Characidae*) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. **Comunicações do Museu de Ciência e Tecnologia da PUC. Série Zoologia.**, v. 13, n. 1, p. 65–88, 2000.

GASPAR, A. L. C.; GÓES-FAVONI, S. P. Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review. **Food Chemistry**, v. 171, p. 315–322, 2015.

GODOY, L. C. de et al. Análise sensorial de caldos e canjas elaborados com farinha de carcaças de peixe defumadas: aplicação na merenda escolar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 86–89, maio 2010.

GÓES-FAVONI, S. P.; BUENO, F. R. Microbial transglutaminase: general characteristics and performance in food processing technology. **Food Biotechnology**, v. 28, n. 1, p. 1–24, 2014.

GÓES-FAVONI, S. P.; MARICÁ, E. G. S.; SHIGEMATSU, E.; DORTA, C. Transglutaminase microbiana (MTGase) na elaboração de fishburguer com aproveitamento de carne mecanicamente separada de tilápia (*Oreochromis niloticus*) – Revisão de Literatura. **Brazilian Journal of Technology**, v. 4, n. 1, p. 20-35, 2021.

GONÇALVES, A. A. **Estudo do processo de congelamento do camarão associado ao uso do aditivo fosfato**. Tese. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

GONÇALVES, A. A. Inovar para um crescimento sustentável. **Revista Aquicultura & Pesca**, maio/junho, 2008.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do pescado - ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo: Editora Atheneu. 608p., 2011.

GONÇALVES, A. A. & ARAÚJO, S. M. L. El pescado fresco: Situación y fomento del consumo en Brasil. **Revista Infopesca Internacional**, v. 42 (abril/junio), p. 16-21, 2010.

GONÇALVES, A. A.; PASSOS, M. G. Restructured fish product from white croaker (*Micropogonias furnieri*) mince using microbial transglutaminase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 4, p. 978–995, 2010.

GONÇALVES, L. U. et al. The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000) broodstock. **Aquaculture Research**, p. 195–203, 2012.

HARDER, M. N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V. Avaliação quantitativa por colorímetro digital da cor do ovo de galinhas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v.102 n. 563-564, p. 339-342, 2007.

poedeiras alimentadas com urucum (Bixa orellana)

HORWITZ, W. **Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, AOAC**. 13 ed., 1980.

HOWGATE, P. **Determination of total volatile bases**. Scotland: Torry Research Station. Aberdeen, SD 564, Appendix 4., 1976.

HUYNH, M. D.; KITTS, D. D. Evaluating nutritional quality of pacific fish species from fatty acid signatures. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 912–918, 1 jun. 2009.

IBGE. Censo agropecuário 2017. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2017.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specification for Foods. **Microorganisms in foods. 2 - Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications**. Buffalo: University of Toronto, 1986.

KIELISZEK, M.; MISIEWICZ, A. Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. **Folia microbiologica**, v. 59, n. 3, p. 241–250, 2014.

KIRSCHNIK, P. G. et al. Estabilidade em armazenamento da carne de tilápia-do-nilo mecanicamente separada, lavada, adicionada de conservantes e congelada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 935–942, 2013.

KIRSCHNIK, P. G.; MACEDO-VIEGAS, E. M. Efeito da lavagem e da adição de aditivos sobre a estabilidade de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante estocagem a -18 °C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 200–206, 2009.

KUNNATH, S. et al. Textural quality and oxidative stability of restructured pangasius mince: effect of protein substrates mediated by transglutaminase. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 1, p. 351–358, 2015.

LEEK, S.; MADDOCK, S.; FOXALL, G. Situational determinants of fish consumption. **British Food Journal**, v. 102, n. 1, p. 18–39, fev. 2000.

LINDBERG, A. M. et al. Enterobacteriaceae found in high numbers in fish, minced meat and pasteurised milk or cream and the presence of toxin encoding genes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 39, p. 11-17, 1998.

LOREDO, A. B. G.; GUERRERO, S. N. Correlation between instrumental and sensory ratings by evaluation of some texture reference scales. **International Journal of Food Science and Technology**, v.46, p. 1977-1985, 2011.

LUSTOSA NETO, A. D.; GONÇALVES, A. A. Produtos formatados e reestruturados de pescado (Parte 2. Tecnologia do Pescado, 12. Tecnologias Inovadoras e Emergentes, Cap. 12.4, p. 261-271) In: **Tecnologia de Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação. 2. Ed. Atheneu**, Rio de Janeiro, RJ: Atheneu, 673 p., 2021.

MACHADO, T. M. et al. Utilization of transglutaminase in medallions from parings and minced fish of spine of tilapia. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 40, n. 4, p. 617–627, 2014.

MACIEL, C. N; VENDEDOR, L. F. F.; DE SOUZA, A. B.; DE ALMEIDA, P. F. Formulation of fishburgers with the addition of different protein sources and taro flour. **Ciência Rural**, v. 51, n. 2, p. 1-8, 2021.

MACARI, S. M. **Desenvolvimento de formulação de embutido cozido à base de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação (Mestrado em tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, p. 116, 2007.

MAKRI, M. Chemical composition physical and sensory properties of fish burgers prepared from minced muscle of farmed gilthead sea bream (*Spams auratd*) using various types of flour. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 11, n. 18, p. 3327–3333, 2012.

MARENGONI, N. G. et al. Caracterização microbiológica, sensorial e centesimal de fishburgers de carne de tilápia mecanicamente separada. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 1, p. 978–978, 2009.

MARTELO-VIDAL, M. J. et al. Reduced-salt restructured European hake (*Merluccius merluccius*) obtained using microbial transglutaminase. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 38, p. 182–188, 2016.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761–770, dez. 2006.

MELLO, S. C. R. P. et al. Development and bacteriological, chemical and sensory characterization of fishburgers made of Tilapia minced meat and surimi. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 5, p. 1389–1397, out. 2012.

MENEGASSI, M. Aspectos nutricionais do pescado. In: **Tecnologia do Pescado - Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**, 608p., p. 43–60, 2011.

MINOZZO, M. G. **Patê de pescado: alternativa para incremento da produção nas indústrias pesqueiras**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Do Paraná, Curitiba, p. 206. 2010.

MONTAZERI, N. et al. Chemical characterization of commercial liquid smoke products. **Food Science & Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 102–115, 2013.

MORAES, M. N. de et al. Variação da composição do Saguiru (*Curimatus elegans Steindachner*), em relação a alguns parâmetros biológicos. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 11 (único), p. 81–91, 1984.

MORAIS, C.; MARTINS, J. F. P. Considerações sobre o aproveitamento de sobras da industrialização de pescado na elaboração de produtos alimentícios. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 18, p. 253–281, 1981.

MOTOKI, M.; SEGURO, K. Transglutaminase and its use for food processing. **Trends in Food Science and Technology**, v. 9, p. 204–210, 1998.

MUZZOLON, E. et al. Processamento de fishburguer utilizando subprodutos da filetagem de tilápia: caracterização físico-química, análise do congelamento e avaliação da vida de prateleira. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 9, n. 1, p. 154-173, 2018.

NEIVA, C. R. P. Carne mecanicamente separada (CMS) de pescado (Parte 2. Tecnologia do Pescado, 11. Tecnologias Tradicionais, Cap. 11.8, p. 217-227) In: Gonçalves, A. A. (Editor). **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. [2. ed.]. Rio de Janeiro, RJ: Atheneu, 673p., 2021.

NIELSEN, P. M. Reactions and potential industrial applications of transglutaminase. Review of literature and patents. **Food Biotechnology**, v.6, p. 119-156, 1995.

O'FALLON, J. V. et al. A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 6, p. 1511–1521, 2007.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri – São Paulo: Manole, 2006.

OGAWA, M.; MAIA, E. I. Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado. São Pauço: Varela, v. 1, 430p., 1999.

OLIVEIRA FILHO, P. R. C. de et al. Elaboration of sausage using minced fish of Nile tilapia filleting waste. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 6, p. 1383–1391, 2010.

OLIVEIRA, D. L. et al. Enrichment of fishburgers with proteins from surimi washing water. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 4, p. 822-826, 2020.

OLIVEIRA, M. C.; CRUZ, G. R. B.; ALMEIDA, N. M. Características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de “almôndegas” à base de polpa de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 1, p. 37-44, 2012.

PAGÈS, J.; BERTHELO, S.; BROSSIER, M.; GOURRET, D. Statistical penalty analysis. **Food Quality and Preference**, v. 32, p. 16-23, 2014.

PASTERNAK, R. et al. Bacterial pro-transglutaminase from *Streptovercillium mobaraense* purification, characterisation and sequence of the zymogen. **European journal of biochemistry**, v. 257, n. 3, p. 570–576, 1998.

PAULO, I. G. P. et al. Avaliação do índice de perda do fishburguer elaborado com filé de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*). **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v.8, n. 2, p. 26-33, 2015.

PEIXE BR. **Anuário Brasileiro da Piscicultura**. Associação Brasileira da Piscicultura, p. 1–71, 2021.

PEREIRA, L. A. **Estudo comparativo de técnicas de determinação da força de cisalhamento de carnes**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade de São Paulo - FZEA, 70p., 2012.

PICARDO, J. J. **Avaliação e influência nas propriedades físicas e químicas do surimi produzidos a partir de diferentes espécies de peixes: corvina (*Micropogonias furnieri*), pargo (*Lutjanus purpureus*), namorado (*Pseudopercis numida*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, 98p., 2019.

PIETRASIK, Z.; JANZ, J. A. M. Influence of freezing and thawing on the hydration characteristics, quality and consumer acceptance of whole muscle

beef injected with solutions of salt and phosphate. **Meat Science**, v.8, pp. 523-532, 2009.

PINTO, B. V. V. **Elaboração de Fishburger com Resíduos da Filetagem da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758) adicionado de Transglutaminase**. Dissertação (Mestre em Ciências) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 81p. 2017.

PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R.B.; FORESTI, F. Biologia e criação do lambari- do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**, BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. 2005.

RAÚL, L. J. et al. Manufacture of biquara (*Haemulon Plumierii*-Lacepède, 1801) fishburger with addition of wheat bran. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v.27, n.5, p. 544-556, 2018.

REVISTA SEAFOOD BRASIL. São Paulo, SP. ISSN 2319-0450. n. 37, p. 1 - 84, dez/jan, 2021.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos & otimização de processos**. 3ª ed., 358p. 2014.

ROMEIH, E.; WALKER, G. Recent advances on microbial transglutaminase and dairy application. **Trends in Food Science and Technology**, v. 62, p. 133 – 140, 2017.

RUSTAD, T.; STORRØ, I.; SLIZYTE, R. Possibilities for the utilisation of marine by-products. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 10, p. 2001–2014, 2011.

SARY, C. et al. Influência da lavagem da carne mecanicamente separada de tilápia sobre a composição e aceitação de seus produtos. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 7, n. 4, p. 423–432, 2009.

SEBBEN, C. L. et al. Rendimento e avaliação sensorial de hambúrgueres de carpa (*cyprinus carpio*) com diferentes condições de processamento e armazenagem sob congelamento. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 18, n. 1, p. 1–12, 2000.

SIGNOR, F. R. P. **Aprimoramento na qualidade nutricional da carne mecanicamente separada da tilápia do Nilo e sua aplicação em empanados**. Tese (Doutora em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 68p., 2018.

SIGURGISLADOTTIR, S. et al. Effects of different salting and smoking processes on the microstructure, the texture and yield of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. **Food Research International**, v. 33, p. 847–855, 2000.

SIMBINE, E. O.; RODRIGUES, L. C.; BURBARELLI, M. F.; MACEDO-VIEGAS, E. M.; TRINDADE, C. S. F.; ENKE, D. B. S.; LAPA-GUIMARÃES, JUDITE. Cinnamomum zeylanicum extracts reduce lipid oxidation in broadband anchovy (*Anchoviella lepidentostole*) minced fish. **Food Science and Technology**, p. 1-10, 2021.

SOUZA, N. S. **Fishburger de lambari (*Astyanax altiparanae*) com antioxidante natural: avaliação do conceito, desenvolvimento e determinação da vida útil.** 2019. No prelo.

SOUZA, N. S.; SANTOS, L. G. P.; MARCELINO, A. D.; RODRIGUES, L. C.; SUSSEL, S. M. L. A.; SIMBINE, E. O.; TRINDADE, C. S. F.; MACEDO-VIEGAS, E. M.; LAPA-GUIMARÃES, J. Development of lambari fishburgers - a sustainable, safe and convenience fish product. In: **XII CIBIA IBEROAMERICAN CONGRESS OF FOOD ENGINEERING, 2019**, Faro. Book of Abstracts. Faro: Universidade do Algarve, 2019. p. 359-359.

STOŁYHWO, A.; SIKORSKI, Z. E. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish - A critical review. **Food Chemistry**, v. 91, n. 2, p. 303–311, 2005.

SUSSEL, F. R. Lambaricultura: partindo para o processamento industrial. **Revista Aquaculture Brasil**, p. 54–55, 2016.

SUSSEL, F. R. Lambaricultura, consolidando-se na aquicultura brasileira. **Revista Aquaculture Brasil**, p. 62–63, 2018.

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

SZCZESNIAK, A. S.; BRANDT, M. A.; FRIEDMAN, H. H. Development of standard rating scales for mechanical parameters of texture and the sensory methods of texture evaluation. **Journal of Food Science**, v. 28, n. 4, p. 397–403, 1963.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos.** p. 44, 2011.

TAVARES, M. M. **Fontes de óleos vegetais em dietas para lambari-do-rabo-amarelo (*astyanax altiparanae*): desempenho produtivo, perfil de ácidos graxos, rendimento e composição de carcaça.** Dissertação (Mestre em Ciências) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2011.

TAVARES, T. D. M.; SERAFINI, Á. B. Carnes de hambúrgueres prontas para consumo: aspectos legais e riscos bacterianos. **Revista de Patologia Tropical**, v. 35, n. 1, p. 1–21, 2007.

TÉLLEZ-LUIS, S. J. et al. Low-salt restructured fish products using microbial transglutaminase as binding agent. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, n. 9, p. 953–959, 2002.

TOKUR, B. et al. Changes in the quality of fishburger produced from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) during frozen storage (-18 °C). **European Food Research and Technology**, 2004.

VIEIRA, R. H. S. dos F. Microbiologia do Pescado. In: **Tecnologia do Pescado - Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**, 608p. p.33-42, 2011.

WANG, S. et al. Validation and use of in vivo solid phase micro-extraction (SPME) for the detection of emerging contaminants in fish. **Chemosphere**, v. 85, n. 9, p. 1472–1480, nov. 2011.

WAYS, P.; HANAHAN, D. J. Characterization and quantification of red cell lipids

in normal man. **Journal of Lipid Research**, v. 5, n. 3, p. 318–328, 1 jul. 1964.

YASIN, H. et al. Optimization and rheological properties of chicken ball as affected by κ-carrageenan, fish gelatin and chicken meat. **LTW – Food Science and Technology**, v. 66, p. 79–85, 2016.

YERLIKAYA, P. et al. The quality alterations of rainbow trout mince treated with transglutaminase. **LTW – Food Science and Technology**, v. 84, p. 815–820, 2017.

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

ANEXO I

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
Centro de Pesquisa de Aquicultura

DECLARAÇÃO

O lambari rosa é uma mutação natural do lambari-do-rabo-amarelo, (*Astyanax altiparanae* que recentemente foi reclassificado como *Astyanax lacustris*, Lucena & Soares, 2016). A expressão da coloração rosada trata-se de uma particularidade genética ligada a um gene recessivo que inibe a expressão total ou parcial da pigmentação original. Situação idêntica ao que ocorre com a tilápia vermelha (*Oreochromis niloticus*), a qual tanto pode se apresentar completamente vermelha quanto também mesclada com vermelho e cinza, que é a sua coloração original.

Dentre as principais chaves para identificação do *Astyanax lacustris* estão o número de dentes na arcada inferior e o número de escamas na linha lateral, sendo que o lambari rosa possui quantidades idênticas destas duas chaves.

Taxonomistas são ávidos para identificar e nomear uma nova espécie. O lambari rosa é criado comercialmente no estado de São Paulo há pelo menos 8 anos. Fosse uma espécie nova, já teria sido identificada, descrita e publicada.

Portanto, é de consenso dos especialistas no assunto que o lambari rosa não é uma espécie diferente, e sim uma mutação natural do lambari-do-rabo-amarelo.

Pirassununga-SP, 28 de Fevereiro de 2019.

Dr. Fábio Rosa Sussel
Zootecnista CRMV-SP 03511 ZP
Pesquisador Científico em Lambari
Chefe da UPD Pirassununga

ANEXO II

seafood brasil

#37 - Dez/Jan 2021
ISSN 2319-0450

www.seafoodbrasil.com.br

Na fila de espera

Inserção global do Brasil no pescado passa por planejamento, articulação institucional e maior competitividade

This document was created by an application that isn't licensed to use novaPDF.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

FISH BURGER

CADÊ O PEIXE QUE ESTAVA AQUI?

Apenas no Brasil não temos hambúrgueres de pescado no cardápio das grandes redes de alimentação.

Aponte a câmera do celular para o QR code e veja esse anúncio em realidade aumentada no Facebook ou Instagram.

INGREDIENTES

Há muito, o setor de pescados nacional vem se posicionando para competir globalmente. Incrementamos a qualidade de nossa matéria-prima; aumentamos a eficiência e controle de nossos processos produtivos; temos modernizado nosso parque industrial; e em um grande esforço estamos trabalhando para que cada vez mais brasileiros e estrangeiros possam desfrutar da melhor proteína com a inscrição que nos orgulha: MADE IN BRAZIL. É chegada a hora de sermos balizados por regras que permitam o desenvolvimento de novos produtos, assim como para a carne, o frango e o suíno, para que possamos, por exemplo, retomar com os fishburgers nos cardápios das principais redes de alimentação do mundo presentes em nosso Brasil.

www.abipescas.com.br

ABIPESCA

This document was created by an application that isn't licensed to use novaPDF.
Purchase a license to generate PDF files without this notice.

APÊNDICE I

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Inovação no aproveitamento integral do lambari (*Astyanax altiparanae*/Astyanax lacustris) e manjuba (*Anchoviella lepidentostole*)

Pesquisador: Judite das Graças Lapa Guimarães

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 81123517.0.0000.5422

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.008.926

Apresentação do Projeto:

A submissão do projeto de pesquisa ao CEPH é admissível, uma vez que envolve análise sensorial, bem como treinamento de um subconjunto de participantes na discriminação de características sensoriais do produto (fishburgers).

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a estabilidade microbiológica e físico-química e aceitação sensorial de fishburgers de lambari e manjuba com adição de transglutaminase microbiana e fumaça líquida durante o armazenamento congelado.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há benefício direto aos participantes. Os riscos são equivalentes aos do consumo de alimentos industrializados em geral.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os métodos da pesquisa não expõem os participantes a nenhuma forma de constrangimento, nem os submetem a situações estressantes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os TCLE específicos para cada fase da pesquisa (consumidores e treinados) estão redigidos de forma clara e concisa. São dadas garantias de ressarcimento de eventuais perdas e danos.

Endereço: Avenida Duque de Caxias Norte, 225
Bairro: Campus Universitário da USP CEP: 13.635-600
UF: SP Município: PIRASSUNUNGA
Telefone: (19)3565-4299 Fax: (19)3565-4114 E-mail: cep@ceh.usp.br

APÊNDICE II

Identificação dos compostos voláteis da fumaça líquida e seus respectivos tempos de retenção (TR). Continua.

Pico	TR (min)	KI*	KI	Composto	Fórmula Molecular	Identificação	Área (%)	Referência
13*	12,71	1001,67	1001	2-Cyclopenten-1-one, 2,3-dimethyl-	C ₇ H ₁₀ O	MS, RI	2.53	Lu, Yu, et al., 1997
14	13,16	1010,10	-	Sílica	-	-	3.60	-
15	13,70	1019,72	-	Cyclohexene, 3,3,5-trimethyl-	-	N.I.	0.26	-
16	13,79	1021,36	1022	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	MS, RI	2.44	Borse, Jagan Mohan Rao, et al., 2002
17	14,17	1027,80	-	2,4-Pentadien-1-ol, 3-propyl-, (2Z)- \$\$ (2E)-3-Propyl-2,4-pentadien-1-ol # \$\$	-	N.I.	0.16	-
18	14,36	1031,14	-	4-Hexen-3-one, 4,5-dimethyl-	-	N.I.	0.29	-
19	14,53	1033,86	-	Phenol, 2-methoxy-	C ₇ H ₈ O ₂	MS	12.15	*
20	14,79	1038,09	-	1,1-Dimethyl-4-methylenecyclohexane	-	N.I.	0.36	-
21	14,91	1040,03	-	Cyclohexane, (1-methylethylidene)-	-	N.I.	0.78	-
22	15,24	1045,32	-	Sílica	-	-	1.76	-
23	15,38	1047,48	-	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	MS	0.59	*
24	15,68	1052,12	-	Cyclopentane, 1-methyl-1-(2-methyl-2-propenyl)-	-	N.I.	0.16	-
25	15,80	1053,94	-	Cyclohexanone, 3-ethenyl-	-	N.I.	0.55	-
26	16,09	1058,40	-	Cyclopropane, 1,1,2-trimethyl-3-(2-methyl-1-propenyl)-	-	N.I.	0.22	-
27	16,32	1061,75	-	Benzene, 1,2-dimethoxy-	-	N.I.	0.19	-
28	16,43	1063,36	-	Phenol, 3-ethyl-	-	N.I.	0.46	-

29	16,57	1065,35	-	Cyclopentane, 1-methyl-1-(2-methyl-2-propenyl)-	-	N.I.	0.23	-
30	16,69	1067,17	-	Phenol, 3,4-dimethyl-	C ₈ H ₁₀ O	MS	1.58	*
31	16,76	1068,14	1081	Phenol, 2,6-dimethyl-	C ₈ H ₁₀ O	MS,RI	0.47	Berezkin, Korolev, et al., 2000
32	16,85	1069,36	-	2(3H)-Benzofuranone, hexahydro-3-methylene-	-	N.I.	0.14	-
33	17,11	1073,06	-	cis-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol	-	N.I.	0.20	-
34	17,26	1075,17	-	Phenol, 3-ethyl-	-	N.I.	0.29	-
35	17,34	1076,36	-	Phenol, 2,3-dimethyl-	-	N.I.	0.33	-
36	17,43	1077,55	1079	Creosol	C ₈ H ₁₀ O ₂	MS, RI	0.78	Adams, 2009
37	17,54	1079,06	-	Phenol, 2,3-dimethyl-	-	N.I.	0.31	-
38	17,63	1080,28	1080	Creosol	C ₈ H ₁₀ O ₂	MS, RI	0.52	Adams, 2009
39	17,71	1081,35	-	Cyclooctene, 1,2-dimethyl-	-	N.I.	0.11	-
40	17,86	1083,35	-	Creosol	C ₈ H ₁₀ O ₂	MS, RI	5.49	Adams, 2009
41	18,02	1085,53	-	Phenol, 2,3-dimethyl-	-	N.I.	0.21	-
42	18,33	1089,65	-	Sílica	-	-	1.67	-
43	18,58	1092,92	-	Decanal	-	N.I.	0.12	-
44	19,19	1200,81	-	Cyclopentan-1-al, 4-isopropylidene-2-methyl-	-	N.I.	0.18	-
45	19,30	1202,68	-	3,4-Dimethoxytoluene	-	N.I.	0.38	-
46	19,41	1204,43	-	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	-	N.I.	0.11	-
47	19,49	1205,81	-	Phenol, 2-ethyl-5-methyl-	-	N.I.	0.14	-
48	19,67	1208,62	-	Phenol, 3,4,5-trimethyl-	-	N.I.	0.12	-
49	20,05	1214,77	-	1H-Inden-1-one, 2,3-dihydro-	-	N.I.	0.16	-
50	20,22	1217,35	-	Sílica	-	-	0.63	-

51	20,71	1224,94	1229	Benzene, 1,4-dimethoxy-2-methyl-	C ₉ H ₁₂ O ₂	MS, RI	3.03	Lee, Lee, et al., 2005
52	21,33	1234,35	-	Sílica	-	-	0.55	-
53	21,65	1239,03	-	1,2,3-Trimethoxybenzene	C ₉ H ₁₂ O ₃	MS	0.20	*
54	22,64	1253,11	-	7-Methylindan-1-one	-	N.I.	0.14	-
55	22,78	1255,13	-	Phenol, 2,6-dimethoxy-	C ₈ H ₁₀ O ₃	MS	0.33	*
56	23,84	1269,44	-	Phenol, 2-methoxy-4-propyl-	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	MS	0.36	*
57	24,47	1277,78	-	Sílica	-	-	0.51	-
58	24,98	1284,22	-	Benzene, 1,2,3-trimethoxy-5-methyl-	C ₁₀ H ₁₄ O ₃	MS	0.22	*
59	25,85	1295,03	-	Sílica	-	-	0.20	-
60	27,18	1414,01	-	2-[(p-Trimethylsilyloxy)phenyl]-2-[(p-trimethylsilyloxyethylenoxy)phenyl]propane	-	N.I.	0.17	-
61	29,92	1452,95	-	Diethyl Phthalate	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	MS	0.49	*
62	31,01	1467,42	-	Sílica	-	-	0.29	-
63	31,51	1473,83	-	Diethyl Phthalate	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	N.I.	28.47	-
64	36,89	1537,67	-	Sílica	-	-	0.18	-
65	42,00	1857,74	-	Dibutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	N.I.	0.32	-

KI-Índice de Kovats; NI - Não Identificado; KI*- Índice de Kovats calculado referente aos n-alcanos (C10-C40) na coluna RtxR-5MS, identificação baseada no tempo de retenção RT, identificação baseada no índice de retenção KI e * identificação baseada na comparação dos espectros de massa, MS. MS, identificação por similaridade de espectros. *Picos anteriores ao pico 13 não foram inseridos na tabela devido a posição de seus carbonos antecederem ao primeiro alcanos C10 do padrão. Fonte: Própria autoria.