



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

MICHELLE RAYSSA PEREIRA DE MELO

**BIOCONVERSÃO DO EXOESQUELETO DO CAMARÃO PARA
ELABORAÇÃO DE FILME BIODEGRADAVÉL A BASE DE QUITOSANA**

JOÃO PESSOA

2014

MICHELLE RAYSSA PEREIRA DE MELO

**BIOCONVERSÃO DO EXOESQUELETO DO CAMARÃO PARA
ELABORAÇÃO DE FILME BIODEGRADAVÉL A BASE DE QUITOSANA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção de título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr João Andrade da Silva

JOAO PESSOA

2014

MICHELLE RAYSSA PEREIRA DE MELO

**BIOCONVERSÃO DO EXOESQUELETO DO CAMARÃO PARA
ELABORAÇÃO DE FILME BIODEGRADAVÉL**

Tese apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Centro de
Tecnologia da Universidade Federal da
Paraíba em cumprimento aos requisitos
para obtenção de título de Doutor em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Tese _____ em ___ / ___ / 2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. João Andrade da Silva – DTA/CTDR/UFPB

Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dr. José Marcelino Oliveira Carvalheiro – DTA/CTDR/UFPB

Examinador Interno

Prof. Dr. Roberto Sassi – DSE/CCEN/UFPB

Examinador Externo

Prof. Dr^a. Edeltrudes Oliveira de Lima DCF/CCS/UFPB

Examinador Externo

Prof. Dr Ricardo Dias de Castro – DEP-FONO/CCS/UFPB

Examinador Externo

Aos meus pais, Maria de Lourdes e Paulo José, pelo apoio e incentivo, a minha filha
Layla grande amor da minha vida e aos meus irmãos Atila e Joelza Melo, a minha
sobrinha que amo Marilia que tanto me alegra.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo a Deus, presente nos momentos difíceis, por escutar minhas orações e por seus anjos para me orientar e abrir portas quando eu já achava que tudo seria perdido.

Aos meus amados pais, Maria de Lourdes e Paulo José, não apenas pelo esforço de me dar o melhor e me fazer sempre ir além, mais também pelo incentivo constante, pelas conversas, os momentos felizes em família, e até os de desentendimento, agradeço e o farei sempre, pois mesmo que eu pudesse não os trocaria jamais.

Ao meu irmão Atila Felipe, um dos homens mais íntegros, honesto e amoroso que tive o prazer de conviver, agradeço não só por ter este ser iluminado ao meu lado, mas também pela ajuda em todo e qualquer momento em que pedi.

A minha irmã Joelza Melo que mesmo morando longe esteve sempre presente, cuidando de mim como se ela fosse à irmã mais velha e eu a mais nova, te agradecerei sempre pelos cuidados.

A Layla meu eterno amor, várias pessoas passam pela vida buscando sua metade e aquele para chamar de amor de sua vida, eu jamais precisei fazer essa busca, por que meu amor verdadeiro veio na forma dessa filha maravilhosa que Deus me deu a honra de ter.

A minha cunhada Marcia Domingos, pelo apoio “logístico”, incentivo, por me ouvir sempre que eu precisei, por ser minha amiga, a você “Marcy”, um grande obrigado.

Ao meu orientador Dr. João Andrade da Silva, pela orientação, pelos ensinamentos tanto científicos quanto de vida, agradeço imensamente por tudo, e como já havia dito pra ele uma vez e torno a repetir não mude sua forma de orientar, continue exatamente como o senhor é.

À amiga e colega de curso, Cybelle Pereira, que mesmo tão ou mais ocupada que eu, nunca me negou ajuda ou conselhos, amiga companheira de escala industrial de pesquisa e analises, meu obrigado.

Aos meus amigos do peito e doutores, pois eu terminarei este doutorado e vocês também, o Dra. será nosso e não meu: Natália Bitu, Marcilio Garcia, Gerlândia Gouveia, Diego Uchôa, Andressa Ribeiro, Anna Cristina, Israel Barnett, Ana Carolina, Antônio Carlos, Ana Raquel, Wemerson Matias, Elisângela Villar, Ubiraídys, Edineide Nunes, Carlos Leite, Wellington Leiros, Hermann Costa, José Valdilânio, Jussara e Kilma do CTDR, ao meu padrinho Arlindo Júnior, Marcilio Queiroga, Gerlândia Gouveia, Ligia Pereira, Joseane ,Ana Raquel, Hanna Karelle, José Arlindo e Clara Pontes, meu orgulho e prazer te poder chama-los de amigos, e felicidade suprema em saber que em qualquer momento que eu precise todos vocês estarão dispostos a me ajudar, jamais em palavras serei capaz de dizer o quanto cada um de vocês faz parte da minha vida, de meus anseios e conquistas, muito O –B –R – I- G- A –D- A !!!.

Ao colega José Valdilânio, pois sem você amigo, muitas das análises realizadas não teriam sido realizadas ou lidas, meu mais sincero obrigado.

Aos meus colegas de curso, no compartilhamento dos momentos de angustia e de conquistas ao longo desses quatro anos.

Aos meus colegas de Pós-graduação, pelo apoio, suporte e ajuda, sem vocês eu jamais teria conseguido, por que em todos os momentos em que achei que não iria conseguir um de vocês sempre esteve presente pra ajudar ou indicar onde procurar o conhecimento, á vocês devo vários e vários parágrafos de agradecimento: Aline Gouveia, Wagner, Debora, Nelly, Jacinete, Inês, Diego, Daiana, Ângela, Vanessa, Adma, Taliana, Vilma, Katiuscia, Ana Carla e a todos que eu possa agora não lembrar do nome, mais sempre lembrarei da ajuda, meu muito obrigado.

A toda equipe do Laboratório de Bioquímica de Alimentos (LAQA), A Professora Dra Marciane Magnani, aos técnicos de laboratório Gilvandro e Lucas, pelo apoio e ajuda na realização das análises.

Aos professores Dr. Jackson Professor do departamento de Engenharia Mecânica da UFPB e a Professora Dr. Yêda Almeida da UFPE, pelo suporte na realização das análises deste trabalho.

A coordenadora do curso de Gastronomia da Faculdade Mauricio de Nassau, unidade Recife, professora Amanda Vogas.

A todos que compõem o Laboratório de Pescado do PPGCTA, pelo apoio e dedicação na etapa de preparo das amostras.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de Doutorado.

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

“ Só sei que nada sei” Sócrates.

RESUMO GERAL

MELO, M. R. P BIOCONVERSÃO DO EXOESQUELETO DO CAMARÃO PARA ELABORAÇÃO DE FILME BIODEGRADAVÉL . João Pessoa, 2014. 88 f. Tese (Doutorado em Ciencias e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba.

A produção brasileira de camarão marinho está voltada principalmente para o mercado interno, que absorve melhor o produto descabeçado e descascado, o que gera quantidade relevante de resíduos agroindustriais. O objetivo desta pesquisa foi o desenvolvimento de filmes biodegradáveis de quitosana a partir do exoesqueleto do camarão marinho *Litopeanaeus vannamei* adicionados de fumaça líquida, para aplicação em salsichas. Para caracterização da quitosana foram empregadas as metodologias de determinação da viscosidade, condutimetria, espectroscopia na região do infravermelho e difração de raio-x para caracterização do polímero e realizados os testes de resistência a tração, módulo elásticos, solubilidade, opacidade e espessura para caracterização dos filmes. As análises microbiológicas foram realizadas nas salsichas antes e após acondicionamento segundo a Resolução da ANVISA nº 12 de janeiro de 2001, nos de filmes de quitosana com e sem plastificante adicionada de fumaça líquida, para o recobrimento de salsichas visando o aumento da vida de prateleira do produto ,a atividade antimicrobiana dos filmes foi determinada mediante teste de difusão em ágar sobre as cepas bacterianas: *Escherichia coli* ativa, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus coagulase* positiva. Nos resultados, não foram observadas presença de coliformes a 45 °C, *Staphylococcus coagulase* positiva, *Clostridium* sulfito redutor e não foi detectada a presença de *Salmonella* sp, quanto à ação antimicrobiana, foram encontrados halos de inibição no biofilme adicionado de fumaça líquida, apenas para *Escherichia coli*. Quanto às propriedades sensoriais de salsichas embaladas com três tipos de filme biodegradável de quitosana foram diferenciadas pela adição de fumaça líquida nas concentrações de 5%, 7% e 10%. Uma escala hedônica de nove pontos foi empregada para analise de diferença de controle e os testes de aceitação foram analisados pela metodologia de Mapa de Preferência Interno (MEDPRF). Os resultados indicaram que houve diferença significativa entre o controle, filme convencional de polietileno e os filmes biodegradável de quitosana acrescidos de fumaça líquida. Pela análise do Mapa de Preferência observou-se que as salsichas recobertas com filme contendo fumaça líquida nas concentrações de 5% e 7%, não diferenças estatísticas obteve para os atributos: Aparência, Aroma, Sabor, Textura e Aceitação global na adição teores de adição de fumaça, quando comparados com a amostra controle e 10% de fumaça. Foi possível observar que as análises mecânicas do filme biodegradável de quitosana apresentaram-se como de baixa elasticidade e alta resistência a tração, e aceitáveis quanto a opacidade, solubilidade e espessura e que mais pesquisas precisam ser realizadas a fim de elaborar filmes de quitosana mais flexíveis e resistentes. Concluímos que os resultados encontrados foram eficientes para determinação da quitosana, e compatíveis com a literatura quanto à caracterização de filmes de origem polimérica

PALAVRAS-CHAVE: biodegradável, resíduos da carcinicultura, fumaça líquida.

ABSTRACT

MELO, M. R. P. BIOCONVERSION OF THE EXOSKELETON SHRIMP FOR DEVELOPING BIODEGRADABLE PACKAGING. João Pessoa, 2014. 87f. Thesis (Doctorate in Sciences and Food Technology), Federal University of Paraíba.

The Brazilian production of marine shrimp is mainly focused on the domestic market, which better absorbs the headless and peeled product, which generates significant amount of agro-industrial waste. The objective of this research was to develop biodegradable films of chitosan from the exoskeleton of marine shrimp *vannamei Litopeanaeus* added liquid smoke for use in sausages. For characterization of chitosan obtained from the exoskeleton of shrimp were employed methodologies for determining viscosity , conductometry , spectroscopy in the infrared and x-ray diffraction to characterize the polymer and performed tests of tensile strength , elastic modulus , solubility , opacity and thickness to characterize the films . The results were efficient for the determination of chitosan, and consistent with the literature regarding the characterization of polymeric films of origin. Microbiological analyzes were performed on the sausages before and after preparation according to ANVISA Resolution on January 12, 2001, in the chitosan films with and without plasticizer added to liquid smoke for coating sausages in order to increase the shelf life of the product the antimicrobial activity of the films was determined by the agar diffusion method on bacterial strains: *Escherichia coli* active, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus coagulase* positive. In the results , not presence of coliforms at 45 ° C , coagulase *Staphylococcus* positive , were observed *Clostridium* sulfite reducer was not detected the presence of *Salmonella* sp, as the antimicrobial activity , inhibition zones were found in biofilm added liquid smoke , only to *Escherichia coli*. As for the sensory properties of sausages packaged in three types of biodegradable chitosan film extracted from the exoskeleton of marine shrimp were differentiated by the addition of liquid smoke concentrations: 5 %, 7% and 10%. A nine-point hedonic scale was used to analyze the difference of control and acceptance testing were assessed using internal preference mapping (MEDPRF). The results indicated a significant difference between the control, conventional polyethylene film and biodegradable chitosan film plus smoke. By Preference Mapping revealed that the coated film containing sausages with liquid smoke in concentrations of 5 % and 7 %, no statistical differences obtained for the attributes: Appearance, Aroma, Taste, texture and overall acceptance levels in the addition of adding smoke compared to the control sample and 10 % " smoke. It was observed in this work that the mechanical analyzes of biodegradable chitosan film is presented as a low elasticity and high tensile strength , and acceptable as opacity, solubility and thickness and that more research needs to be conducted in order to prepare chitosan films more flexible and resistant .

KEY-WORD: biodegradable waste from shrimp, liquid smoke.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1:	Morfologia de um camarão peneídeo	9
Figura 2:	Estrutura da quitina	10
Figura 3:	Estruturas polimórfica da quitina	11
Figura 4:	Estrutura da quitosana	12
ARTIGO 1		
Figura 1:	Difratograma de raios x da quitosana extraída do camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> .	37
Figura 2:	Curva da viscosidade reduzida versus concentração da amostra de quitosana (g/mL) extraída do camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> .	38
Figura 3:	Curva de titulação condutimétrica das amostras de quitosana extraída do camarão marinho <i>Litopenaeus vannamei</i>	39
Figura 4:	Espectro de absorção da região do infravermelho (IV) da das amostras de quitosana extraída do camarão marinho <i>Litopenaeus vannamei</i>	39
ARTIGO 2		
Figura 1:	A, B, C e D: Salsicha tipo hot dog cobertas com filme plástico de Polietileno e filme de quitosana no 21° e 30° de estocagem.	50
Figura 2:	Teste de halo de Inibição de <i>Escherichia coli</i> para biofilme de quitosana sem plastificante	53
Figura 3:	Teste de halo de Inibição de <i>Escherichia coli</i> para biofilme de quitosana com plastificante.	53
ARTIGO 3		
Figura 1:	Dispersão das amostras de salsicha cobertas com biofilme de quitosana acrescido de fumaça líquida: (1) filmes controle sem fumaça; (2) com 5% de fumaça; (3) 7% de fumaça e (4) 10% de fumaça, em relação aos atributos sensoriais avaliados.	66

LISTA DE QUADROS

	PAG
Quadro 1: Principais produtores mundiais de camarão capturado e cultivado (2003/2008).	5

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

- Tabela 1.** Propriedades dos filmes de quitosana com e sem plastificante, com e sem fumaça líquida. 41

ARTIGO 2

- Tabela 1.** Analise microbiológica para salsichas mistas cobertas com filme de quitosana acrescido de fumaça líquida a 5%. 50

ARTIGO 3

- Tabela 1:** Médiana por atributo para diferentes amostras de salsichas cobertas com biofilme de quitosana acrescido de fumaça líquida 62
- Tabela 2:** Frequência percentual acumulada por atributo do grau de satisfação dos provadores em relação às amostras de salsicha cobertas com biofilme 62
- Tabela 3:** Teste de diferença de controle das amostras de salsichas cobertas com biofilme de quitosana acrescido de fumaça líquida 63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCC Associação Brasileira de Criadores de Camarão

ANOVA Análise de variância

FAO Food and Agriculture Organization

SUMÁRIO

		PAGINAS
1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVO GERAL	3
2.1	Objetivos Específicos	3
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
4.1	Carcinicultura no Brasil	4
4.2	Aproveitamento dos Resíduos da Carcinicultura	6
4.3	Aspectos morfológicos e estrutura química do camarão	8
4.4	Aspectos físicos e químicos da quitina e quitosana	10
4.5	Uso de biofilmes na indústria de alimentos	14
4.6	O uso de defumação em produtos cárneos	16
5	MATERIAL E MÉTODOS	18
5.1	Preparação da matéria-prima dos resíduos da carcinicultura	18
5.2	Obtenção de quitina e transformação em quitosana	18
5.3	Caracterização da quitosana	19
5.4	Elaboração do biofilme de quitosana	19
5.5	Caracterização dos biofilmes de quitosana acrescidos de fumaça líquida com e sem plastificante	20
5.6	Analise microbiológica das salsichas cobertas com biofilme de quitosana	20
6.0	Atividade antimicrobiana do biofilme de quitosana	21
6.1	TESTE DE ACEITAÇÃO	21
7.0	ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
8.0	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
9.0	RESULTADOS E DISCUSSÕES	31

9.1	ARTIGO 1	31
9.2	ARTIGO 2	44
9.3	ARTIGO 3	57
10	CONCLUSÃO GERAL	68
	ANEXOS	

1 INTRODUÇÃO

A redução dos estoques pesqueiros naturais tem sido um problema relacionado à segurança alimentar e ao bem-estar social os crescentes déficits entre a quantidade de pescado capturado e a demanda de consumo tornaram a aquicultura uma das alternativas mais promissoras para o fornecimento de alimento de excelente valor biológico (NATORI, 2011). Das espécies aquáticas produzidas mundialmente, a carcinicultura marinha (cultivo de camarão em cativeiro) gerou a maior renda em relação a outros cultivos como o de salmão e carpa, sendo considerada como a mais importante “commodity” comercializada, correspondendo a 15,4% da renda total gerada pela produção de pescado (FAO, 2009).

A produção brasileira de camarão marinho está voltada principalmente para o mercado interno, que absorve melhor o produto descabeçado e descascado, o que gera quantidade relevante de resíduos agroindustriais (FOGAÇA e LEGAT 2009). Durante o processamento e beneficiamento do camarão na etapa de descasque são geradas grandes quantidades de material sólido. A cabeça e as cascas apresentam aproximadamente 40% do peso do animal durante a filetagem. Quase todo o lixo proveniente do descasque gerado na industrialização do camarão é descartado, promovendo, uma das principais preocupações da indústria de alimentos que é encontrar formas de aproveitamento dos resíduos gerados, que possam ser revertidos em benefícios financeiros para a indústria e que possam minimizar o impacto ambiental ou até mesmo evita-lo (FELTS et al., 2010).

Neste sentido, novas tecnologias, e o emprego de produtos naturais têm gerado interesse dentro das pesquisas na carcinicultura, visando aproveitar os resíduos gerados pelo cultivo, sob formas diversas como: farinha de camarão; elaboração de produtos flavorizantes, quitina e quitosana (GONÇALVES, VIEGAS, 2007). Resíduos estes constituídos basicamente por quitina, proteínas, carbonato de cálcio e pigmentos, que despertam interesse em seu aproveitamento pela possibilidade no desenvolvimento de produtos com valor agregado, como por exemplo a produção de quitosana, que pode ser utilizada na medicina e nas indústrias alimentícia, farmacêutica e química (VIEIRA et al., 2011).

A carapaça de camarão contém cerca de 20% de quitina, caracterizando-a como uma importante fonte natural deste biopolímero, também presente na parede celular de fungos e em outros materiais biológicos. Devido a sua versatilidade a quitina, pode ser

utilizada como agente floculante no tratamento de efluentes, como adsorvente na clarificação de óleos, e principalmente na produção de quitosana. Esta possui valor comercial maior e propriedades interessantes para pesquisa bem como no âmbito industrial, tornando-se uma alternativa de utilização para a quitina (NEVES et al.,2013).

Na indústria de alimento, a quitosana pode ter diversas aplicações, quais sejam: recuperação de subprodutos, purificação de água, clarificação de sucos, emulsificante de aromas, agente antioxidante, emulsificante e estabilizante. A sua eficiência também foi detectada na preservação da qualidade microbiológica dos alimentos e na formação de filmes biodegradáveis (HENNING, 2009).

O emprego de polímeros naturais de origem Hidrocoloidal, Lipídicos ou Compostos (A base de proteínas, lipídeos ou polissacarídeos mais lipídeos) na formação de embalagens flexíveis tem sido alvo de diversas pesquisas sobre biopolímeros visando à substituição parcial dos polímeros sintéticos. Na tentativa de lidar com o lixo gerado, problema este, causador de distúrbios ambientais, onde diversas pesquisas foram desenvolvidas visando à produção e caracterização de filmes biodegradáveis à base de macromoléculas naturais, como proteínas de soro de leite, gelatina, amido de mandioca, proteína de soja, pectina, quitosana, entre outros, (MACIEL, FRANCO, YOSHIDA, 2012).

Dos compostos investigados para elaboração de filmes biodegradáveis, os polissacarídeos têm sido avaliados como uma alternativa consideravelmente econômica e eficiente para este fim, sendo a quitosana como o sacarídeo mais pesquisado, em virtude deste polímero poder formar facilmente filmes e membranas, este polissacarídeo, pode ser utilizado como envoltório protetor de alimentos (ASSIS, 2008). Assim sendo, este trabalho teve como objetivo principal o desenvolvimento biofilmes de quitosana a partir do exoesqueleto do camarão marinho *Litopeanaeus vannamei* adicionados de fumaça líquida, para aplicação em salsichas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver filmes biodegradáveis de quitosana a partir de resíduos da carcinicultura adicionados de fumaça líquida, para aplicação em salsichas.

2.2 Objetivos específicos

- Obter e caracterizar a quitosana proveniente de resíduos da carcinicultura;
- Elaborar filmes a partir da quitosana com e sem plastificantes, adicionando fumaça líquida pelo processo de aspersão em salsichas;
- Analisar os filmes isolados quanto as suas propriedades físicas e químicas;
- Fazer análise microbiológica do produto final quanto à contagem padrão dos seguintes microrganismos: pesquisa do N.M.P de coliformes a 45° C, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutor e *Salmonella* sp
- Determinar da atividade antimicrobiana do filme biodegradável.
- Verificar a aceitabilidade das salsichas cobertas com biofilme de quitosana;

4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1 Carcinicultura no Brasil

A depleção dos estoques mundiais de pescado tem sido por vários anos uma ameaça à oferta de alimentos de alto valor biológico, visto que sua redução pode diminuir o bem-estar social em virtude do acelerado crescimento da população mundial. Segundo a Food Agriculture Organization FAO (2009), mais de 52 % dos estoques mundiais de pescado já foram explorados, o que num futuro não distante acarretará na falta destes produtos a população mundial. Em contraste com estes dados, a aquicultura, tem se tornado rapidamente em termo de quantidade uma relativa contribuição ao mundo, na suplementação quanto à oferta do pescado, obtendo o camarão marinho, um destaque dentro da aquicultura (JIANG, 2010).

No Brasil, a carcinicultura comercial teve início na década 1970, baseando-se em tecnologias importadas, cujas validações e aprimoramentos contribuíram para a definição de um pacote tecnológico próprio e adequado à nossa realidade (ROCHA, 2009), com destaque para a espécie *Litopenaeus vannamei* nativa da costa sul-americana do pacífico e cultivada em vários países do ocidente. Essa espécie possui uma boa taxa de crescimento, grande adaptabilidade as diferentes condições ambientais, além de possuir uma carne de boa qualidade e coloração, o que garante uma excelente aceitação no mercado internacional, bem como no mercado brasileiro. É considerada a variedade que melhor se adaptou ao cativeiro no Brasil, além de apresentar vantagens como alta produtividade (DAMASCENO et al., 2009).

Em 2006, entre as 50 nações que atuaram na produção de camarão, 90% foram países asiáticos, os quais obtiveram as melhores marcas dos produtos marinhos comercializados mundialmente, com maior destaque para a China. O Brasil ocupava a sétima posição, com uma produção de 65 mil toneladas (**Quadro 1**), exportando para diversos países como: França, Espanha, Japão, Holanda, Portugal e Estados Unidos (NATORI, 2011), e ABCC (Associação Brasileira dos Criadores de Camarão).

Quadro 01: Principais produtores mundiais de camarão capturado e cultivado (2003/2008)

Principais produtores (Pesca Extrativa)	2003	2008	Cresc. da Produção (%)	Principais Produtores (Aquicultura)	2003	2008	Cresc. da Produção (%)
	Produção (T)	Produção (T)			Produção (T)	Produção (T)	
China	1.238.431	1.222.018	-9,40 %	China	687.628	1.268.074	84,41%
Índia	417.039	375.795	9,89%	Tailândia	330.725	507.500	53,45%
Indonésia	240.743	270.090	12,19%	Indonésia	191.148	408.346	113,63%
Canadá	146.044	168.900	15,65%	Vietnã	231.717	381.300	64,55%
Groelândia	84.764	140.225	65,43 %	Equador	77.400	150.000	93,80%
EUA	142.261	116.391	-18,18%	México	45.857	130.201	183,93%
Vietnã	102.839	113.300	10,17%	Índia	113.240	86.600	-23,53%
Malásia	73.197	80.417	9,86%	Bangladesh	56.503	67.197	18,93%
México	78.048	66.087	-15,33%	Brasil	90.190	65.000	-27,93%
Filipinas	46.373	47.101	1,57%	Filipinas	37.033	48.199	30,15%
Noruega	65.554	30.856	-52,94%	América central	85.169	131.370	54,25%
Outros	696.402	589.396	-15,43%	Outros	102.401	156.316	51,68%
TOTAL	3.332.205	3.120.566	-6,35%	TOTAL	2.049.011	3.399.105	65,89%

Fonte: Adaptado de www.abccam.com.br (2014).

Esta expansão da carcinicultura brasileira se destacou pela velocidade de ampliação da área ocupada pelas fazendas de engorda, número das fazendas, produção e exportações. Portanto, neste cenário a carcinicultura, mesmo com uma diminuição na quantidade de camarão produzido devido a diversos fatores como ação *anti-dumping* movida pela Southern Shrimp Alliance, e também a contínua desvalorização do dólar americano frente à moeda brasileira, alguns Estados se destacam na produção, a exemplo do Rio Grande do Norte e do Ceará (SAMPAIO; COSTA; SAMPAIO, 2008)

Entretanto, mesmo com a crescente demanda mundial, bem como nacional por pescados, produtos estes de grande valor nutricional, existe a necessidade do desenvolvimento de tecnologias que visem à minimização dos efeitos negativos para o meio ambiente, já que a carcinicultura também interfere na ocupação territorial, em zonas costeiras, nos manguezais, na utilização de recursos hídricos e na biodiversidade, gerando impactos químicos e socioeconômicos. Por isso, o fortalecimento das leis ambientais aos impactos negativos à sua imagem nos mercados interno e externo, deve levar as empresas a implementar sistemas preventivos com objetivo de minimizar esses impactos, podendo ainda utilizá-los como estratégias de marketing (DIAS; SOARES; NEFEA, 2012).

4.2 Aproveitamento de resíduos da carcinicultura

De acordo com a Norma Brasileira Regulamentadora 10.004 (ABNT, 2004), resíduos sólidos e semi-sólidos são os produtos resultantes das atividades de origem industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola e de serviços de varrição. A classificação de resíduos envolve a identificação do processo que lhes deu origem e para efeito dessa norma são divididos em: Classe I = Perigosos e Classe II – Não Perigosos, os quais podem ser subdivididos em Classe II A – Não inertes e Classe II B – Inertes (FERNANDES, 2009).

Os resíduos da indústria da pesca podem ser incluídos na Classe I – Perigosos (apresentam propriedades físicas, químicas ou infecto-contagiosas, que oferecem risco à saúde pública e ao meio ambiente) e na Classe II – Não Inertes (com propriedades como a combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade em água). No caso dos resíduos provenientes da carcinicultura estes podem estar nas duas classificações, classe I por serem passíveis de contaminação e classe II por serem biodegradáveis (FERNANDES, 2009).

Normalmente o processamento industrial de pescado gera em torno de 40% de resíduos (cabeça e cascas) descartadas no processo de filetagem, onde apenas 60% de carne comestível. Estes resíduos vêm sendo utilizado basicamente para fabricação de farinha, que na maioria das vezes ainda é de baixa qualidade, ou então parte dele, será descartado nas imediações dos locais de produção, clandestinamente, ou jogados no mar ou em rios, contribuindo para aumentar o problema da contaminação ambiental, trazendo prejuízos ecológicos, sanitários e econômicos. Portanto, na produção de camarão descabeçado e descascado, a carcinicultura gera expressivas quantidades de resíduos sólidos, havendo, assim, necessidade de um manejo e/ou estratégias para solucionar o problema (VIEIRA *et al.*, 2011).

Em virtude das necessidades de adequação das indústrias às leis ambientais, o tratamento dos resíduos sólidos provenientes da indústria de processamento do camarão gera custos extras na produção. Deste modo, a transformação destes resíduos em co-produtos com valor agregado é importante, para que seja possível minimizar os problemas na produção e proporcionar maior eficiência ao processamento, com a farinha de camarão surgindo como uma forma de aproveitamento desses resíduos, que irá gerar benefícios econômicos e ambientais (LIMA *et al.*, 2007). A metodologia para a

obtenção da farinha de camarão se baseia na desidratação de resíduos provenientes da carcinicultura (cabeças e exoesqueletos), desde que previamente limpos, lavados em água corrente, sanitizados com água clorada, fervidos e posteriormente secos em estufa de circulação a 70 °C, apresentando elevado valor nutricional, com fontes proteicas com teores de 50,05 % e potencialidades, que podem ser usadas para formular produtos alimentícios com sabor de “camarão”, além de possuir astaxantina, e quitina que também poderá gerar outras fontes de valor nutricional e tecnológico (FERNANDES et. al., 2013).

O manejo adequado do material descartado com separação das partes comestíveis e estocagem dos resíduos em condições adequadas possibilitaria à indústria brasileira a preparação de novos produtos, que posteriormente viriam a ser utilizados na indústria alimentícia (JERONIMO; BALBINO, 2012). Neste contexto o aproveitamento de resíduos de pescados diminui o risco de poluição ambiental e pode contribuir para o aumento do consumo de proteína animal, além de fornecer matéria-prima de baixo custo. Assim as técnicas para elaboração de farinhas, filme biodegradáveis dentre outros produtos já citados, estão sendo desenvolvidas para a utilização dos resíduos como fonte alimentar de boa aceitabilidade (STEVANATO et al., 2007).

Este aproveitamento dos resíduos, no entanto ainda é pequeno, o que proporciona acumulados nos lixões sem receber qualquer tipo de tratamento, fato que depõe contra a qualidade higiênica das plantas de processamento de camarão, visto que de uma forma geral, os municípios brasileiros não possuem coleta seletiva, nem aterros sanitários disponíveis para a correta disposição destes resíduos e isto contribui para o aumento da poluição ambiental, bem como a contaminação dos lençóis freáticos e desenvolvimento de doenças (NEVE et al., 2012).

Os resíduos da carcinicultura são compostos basicamente representados pela carapaça dos camarões que possuem altos teores de quitina (15-20%), proteínas (25-40%), sais inorgânicos (cinzas 40-55%) e pigmentos carotenóides (cerca de 15%), o que significa que ao invés de simplesmente descartar estes materiais pode-se buscar aproveitamento para tais componentes, minimizando os impactos ambientais do acúmulo desses resíduos (NEVE et al., 2012). Então, pode-se dizer que os resíduos se destacam em relação ao filé do camarão parte comercializada na indústria, no que concerne as suas substâncias alimentares, e mediante alguns relatos científicos da

literatura (VIEIRA et al., 2011); ASSIS, (2008); ABREU et al., (2013) estes compostos são mostrados como nutricionalmente viáveis e que podem ser perfeitamente aproveitados na alimentação humana ou como parte integrante de um produto com o objetivo de ser empregado na indústria de alimentos (DAMASCENO, 2007).

A cabeça do camarão possui baixo valor comercial, sendo uma grande fonte de poluição ambiental, visto que seu descarte além de gerar custos adicionais, reduz a margem de lucro. No caso específico do *L. vannamei*, ocefalotórax constitui aproximadamente 33% do seu peso, dependendo do tamanho do animal (OGAWA, 2007). No entanto possui níveis proteicos aceitáveis e pode ser utilizados para o preparo de diversos produtos no setor de alimentos processados (FERNANDES, 2009).

Vasconcelos e Silveira (2004) destacaram a necessidade de novas pesquisas de cunho nutricional para o melhor aproveitamento docefalotórax e do exoesqueleto. Os mesmos autores afirmaram que o processamento mínimo da carne ou a utilização das diversas estruturas do camarão maximizam o retorno financeiro da produção por adicionar valor agregado ao produto final devido, principalmente, à constituição química desses componentes, onde 32,38% representam ocefalotórax 9,69% de exoesqueleto e 5,05% dos apêndices somando juntos 52,83% do peso total do animal que quase não é utilizado.

Ainda no tocante ao valor nutricional, Castro e Pagani (2004), em seus experimentos para secagem docefalotórax, encontraram teores de proteína entre 39,9 e 35,7%, de 12,2% e 14,4% e para cinzas e baixos teores de colesterol de 0,66% a 0,92%. Esta farinha produzida a partir desse material poderia ser incorporada em novos produtos dando-lhes sabor característico de camarão, além de conferir valor nutricional. Portanto pesquisas na área de aproveitamento dos resíduos da carcinicultura, ainda são poucas e necessitam de novas investigações, que busquem elaborar novos produtos derivados destes resíduos, que apresentam boa qualidade para serem aceitos pelos consumidores.

4.3 Aspectos morfológicos e composição química do camarão

Morfologicamente o camarão *L. vannamei* é comprimido, nas laterais é coberto por um exoesqueleto calcificado constituído de quitina e proteínas, segmentado em três regiões, a cabeça (céfalon), o tórax (péreion) que são fundidos formando uma estrutura única chamada de céfalotórax e o abdômen (pléon) (BARBIERI; OSTRENSKI, 2002).



Figura 1 : Morfologia de um Camarão Peneideo

Fonte:www.abccam.com.br (03/2014).

O músculo do camarão, assim como de todo pescado, é composto por proteínas de elevado valor nutritivo, expressivo teor de minerais e baixas quantidades de lipídios totais. No entanto com relação ao colesterol, gordura intimamente associados aos lipídeos totais, tem-se que o camarão, é um fruto do mar considerado de alto conteúdo de colesterol, contudo sua concentração em ácido graxo poliinsaturado é também considerada elevada, e existe a possibilidade de que a alta concentração desses ácidos graxos possa anular os efeitos nocivos do colesterol no organismo humano (SANTOS; AZEREADO; MARTINS, 2007). Mesmo assim, dados publicados por Franco (1999) demonstram que o percentual de lipídeos em camarão é de aproximadamente 0,8% no animal *in natura*.

Lira et al. (2013), ao pesquisarem um produto com valor agregado, encontraram no camarão *in natura* os seguintes valores de composição química: pH entre 7,0 e 8,5 que é característico de crustáceos (pH alcalino), essa característica se deve a capacidade osmótica e de regulação interna da quantidade de sais absorvida pelo organismo destes crustáceos que liberam amônia; O teor de umidade normal do camarão *in natura* varia de 60 a 80%. Cirol (2007), ao analisar a composição química de duas diferentes espécies de camarão o *Penaeus monodon* e o *L.vannamei*, comparando suas composições, encontrou valores aproximados entre as espécies, quanto a umidade (80,47 % e 77,21%), cinzas (0,95 % e 1,47%), proteínas (17,1% e 18,8%) e (1,23% e 1,30 %) de lipídeos, respectivamente .

4.4 Aspectos físicos e químicos da quitina e quitosana

A quitina é um polissacarídeo de cadeia linear formado por unidades de N-acetil-2- dioxo-D-glicopiranose, interligadas por ligações glicosídicas β (1→4), recebendo a denominação inicial de fungina quando foi isolada de insetos, tendo seu termo quitina derivado do grego, da palavra Chiton, significando um revestimento protetor para invertebrados (ANTONINO, 2007) .

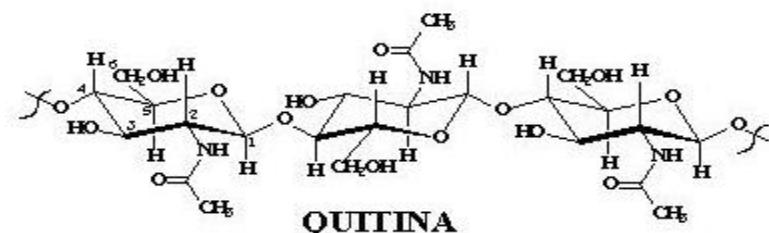


Figura 2: Estrutura da Quitina (HENNING, 2009).

A quitina é encontrada na matriz da estrutura esquelética de invertebrados, como artrópodes, anelídeos, moluscos e celenterados, algas diatomáceas, também estando presente nas paredes celulares de alguns fungos, como *Zygomycotina*, *Ascomycotina*, *Basidiomycotina* e *Deuteromycotina*, sendo isolada por Braconnot em 1881, trinta anos antes do isolamento da celulose, mas sua aplicação na indústria só teve início em 1970. Seu uso em larga escala ainda é muito menos importante que o da celulose, porém alguns importantes segmentos do mercado já são ocupados por derivados de quitina, que devido a sua versatilidade, pode ser utilizado como agente floculante no tratamento de efluentes, como adsorvente na clarificação de óleos, e principalmente na produção de quitosana (DIAS et. al., 2013). A quitosana é a segunda substância orgânica mais abundante na biosfera sendo superada apenas pela celulose, possui características estruturais semelhantes à celulose e nos organismos em que ocorrem faz parte de invólucros protetores, materiais de suporte e defesa. Para ser separada dos outros componentes do corpo dos crustáceos onde é encontrada, é utilizado um processo químico que envolve as etapas de desmineralização e desproteinização das carapaças em soluções diluídas de HCl e NaOH, seguida de descoloração com KMnO₄ e ácido oxálico, por exemplo (AZEVEDO, 2007).

Este polímero é um material biodegradável, não-tóxico, insolúvel em água e em muitos solventes orgânicos, ácidos diluídos, álcalis, e apresenta uma forma de sólido cristalino ou amorfó. Ocorrendo em três diferentes formas denominadas α , β e γ (Figura 2), as quais diferem no arranjo de suas cadeias nas regiões cristalinas. Estas estruturas polimórficas estão possivelmente relacionadas a diferentes funções no organismo, tendo a α -quitina como a forma necessária no animal nos locais em que são necessárias extrema dureza (resistência), como em cutículas de artrópodes, já as formas β e γ encontradas onde há necessidade flexibilidade e dureza sendo a forma dominante, α - quitina é mais estável (ANTONINO, 2007).

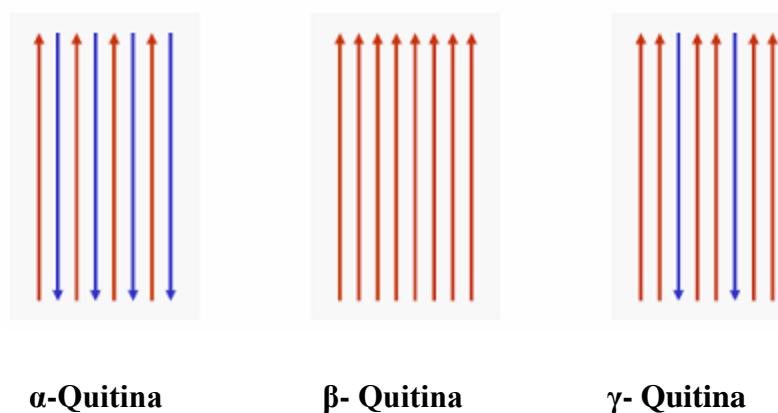


Figura 3: Estruturas polimórfica da quitina (ANTONINO, 2007)

Na indústria de pescado grandes quantidades de quitina são produzidas, originada de crustáceos e principalmente de camarão, que em sua composição apresenta de 5 a 7% de quitina, a partir da qual é extraída a quitosana (ABREU; CAMAPANA-FILHO, 2005). Assim sendo, durante o processamento do camarão geralmente seus resíduos são utilizados para a produção de farinha de pescado, porém esse uso reduz a qualidade nutricional do produto. Uma forma de agregar valor aos resíduos do camarão é a produção de quitosana, utilizada na indústria por possuir estabilidade em suas propriedades químicas, biocompatibilidade, propriedades de biodegradação, tendo vantagens para muitas aplicações potenciais nas áreas farmacológicas, biomédicas, na agricultura, em alimentos, e tratamento de produtos residuais (NEVES et al, 2013).

A quitosana é a forma parcialmente desacetilada da quitina, β -(1-4)-N-acetil-D-glicosamina. Quimicamente é um biopolímero de alto peso molecular, sendo uma

poliamina em que os grupos amino estão disponíveis para reações químicas (preparação de derivados) e formação de sais com ácidos (HENNING, 2009).

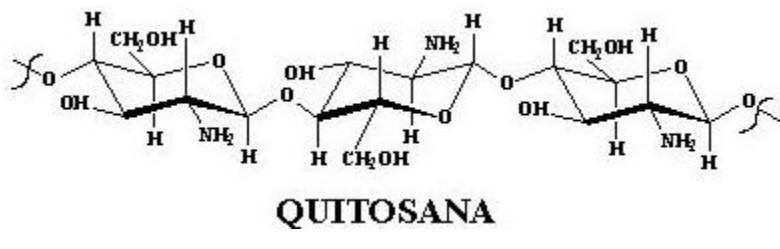


Figura 4: Estrutura da Quitosana (HENNIG, 2009).

A quitina pode ser convertida em quitosana por meios enzimáticos ou por desacetilação alcalina, sendo este último método o mais utilizado. Durante o processo da desacetilação alcalina, parte das ligações N-acetyl do biopolímero são rompidas com a formação de unidades de D-glicosamina que contém um grupo amínico livre. Entretanto, a quitosana não apresenta uma estrutura química uniforme, mas um grupo de biopolímeros parcialmente desacetilados, dos quais, os que apresentam grau de desacetilação superior a 50%, são considerados quitosana (GORTARI; HOURS, 2013).

A quitosana possui diversas aplicações na agricultura, medicina, meio ambiente e alimentos. Na indústria de alimentos, este polímero é usado como agente clarificante, inibidor do escurecimento enzimático em batatas e sucos de maçã e pêra e como antioxidante em salsichas, além de ser utilizada como filme antimicrobiano, finos e transparentes para cobrir frutas e vegetais (DEVLIEGHERE *et al.*, 2004).

Além dos usos supracitados, a quitosana também vem sendo extensivamente pesquisada devido a outras características que lhe conferem vários outros aproveitamentos, tais como: carreador de fármacos de liberação controlada, regeneração de tecidos epiteliais, confecção de membranas artificiais, promotor de osteogênese, antibacteriano, coadjuvante da higiene oral, absorção de gordura e redução do colesterol sérico, componente de cosméticos, remoção e recuperação de diferentes resíduos, biotransformação e detecção de pesticidas, recobrimento de sementes na agricultura, remoção de corantes, aminoácidos e proteínas e como agente floculante no tratamento de efluentes aquosos (FAI *et al.*, 2008).

No que diz respeito à indústria da Aquicultura, durante o processamento do camarão, na etapa de descasque, são geradas grandes quantidades de resíduos sólidos. Estes resíduos são principalmente constituídos por quitina, daí o grande interesse em pesquisas que busquem alternativas para seu reaproveitamento, com vistas ao desenvolvimento de produtos de valor agregado. Embora muitas aplicações para o uso da quitina já tenham sido sugeridas, as pesquisas com quitosana, seu principal derivado, tem despertado maior interesse pelo fato da quitosana ser mais solúvel que a quitina (CARVALHO, 2006).

Os maiores produtores de quitina e quitosana são os Estados Unidos e Japão. A cada ano esses países têm aumentado a produção desses polímeros naturais, em consequência do aumento da sua utilização nas diferentes aplicações, principalmente na indústria de alimentos (DAMIAN, 2005).

A quitosana além de todas as potencialidades já descritas também tem sido investigada por sua ação antimicrobiana, como uma alternativa para substituição de compostos antimicrobianos artificiais. Os pesquisadores têm demonstrado que a quitosana é capaz de provocar a inibição do crescimento de vários microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus faecalis*, *Salmonella enterica*, *Salmonella paratyphi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogene*, *Bacillus cereus*, *Shigella dysenteriae*, *Aeromonas hydrophila*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ludwigii*, *Zygosaccharomyces baillii*, *Cryptococcus albidus*, *Candida spp.* e *Rhodotorula spp.*, no entanto, seu mecanismo de ação sobre os microrganismos não está completamente elucidado, alguns pesquisadores correlacionam essa atividade antimicrobiana da quitosana pela formação de complexos polieletrolíticos que provavelmente se ligam seletivamente à superfície dos microrganismos inativando-os (ALBUQUERQUE et al, 2009).

Em termos de aplicabilidade as oportunidades e áreas de inserção da quitosana são amplas, podendo ser utilizadas para aplicação na produção de medicamentos que auxiliam no combate a obesidade, nas indústrias alimentícias, na laboração de produtos ricos em fibras dietéticas, fungicidas e bactericidas, recobrimento de frutas com biofilmes e no tratamento de efluentes como precursor da floculação, principalmente devido à presença de grupos anímicos. Este biopolímero é considerado quimicamente

mais versátil do que a celulose. Portanto, a presença destes grupos anímicos confere ao polímero solubilidade específica em um pH > 6, como solventes ácidos orgânicos diluídos e ácidos inorgânicos, o que facilita originar soluções viscosas, conferindo propriedades como polieletrólito, e também com possibilidade de formação de filmes, fibras e membranas (DIAS et al., 2013). Deste modo, as grandes potencialidades deste polímero necessitam de uma série pesquisas que visam cada vez mais propiciar a produção de bioprodutos que possam ser utilizados nas mais diversas áreas.

O uso de polímeros naturais à base de quitina-quitosana para aplicações diversificadas têm sido de vital importância para os avanços biotecnológicos e apresentam várias vantagens como a sua fácil obtenção, biocompatibilidade e biodegradabilidade. Contudo os polissacarídeos, como uma classe de macromoléculas naturais, têm sua propensão extremamente bioativa, e são geralmente derivados de produtos agrícolas ou de crustáceos (AZEVEDO et al., 2007). Na área de alimentos a quitosana já foi empregada na preservação de macarrões, arroz, sardinhas e carnes, sem alterar o sabor dos mesmos e inibindo o crescimento de algumas bactérias e fungos que são diretamente responsáveis pela deterioração de alimentos, demonstrando seu poder de conservação (MIRANDA, 2006).

4.5 Uso de biofilmes na indústria de alimentos

De acordo com a definição biofilmes são preparados de materiais biológicos, que agem como barreira a elementos externos e, consequentemente, pode proteger o produto e aumentar a sua vida de prateleira, controlando a perda de umidade, a troca de oxigênio, etileno e dióxido de carbono dos tecidos de frutas, dessa forma, controlando a respiração do produto aumentando sua durabilidade e funcionando como uma alternativa ao tratamento por atmosfera controlada (ASSIS, 2009).

Em sua maioria, os compostos utilizados para a elaboração de embalagens têm sido selecionados com o objetivo reduzir a interação com o produto que acondicionam e atuar como barreiras inertes, apresentando a função principal de proteger o produto embalado, sem interagir com ele. Contudo, novas pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de desenvolver embalagens que interajam com o produto e que possam também ser biodegradáveis, trazendo, portanto, uma vantagem adicional (COSTA et al., 2012); (LAVORGNA et al., 2010). Muitas dessas embalagens têm sido desenvolvidas a partir de matérias-primas naturais e renováveis, que se liguem a matriz polimérica como

os aditivos funcionais incorporados. O uso de filmes e revestimentos biodegradáveis tem gerado um grande volume de pesquisas dentro da indústria de alimentos, devido ao potencial de fornecer ao ambiente proteção pela aumento da biodegradação de embalagens ao serem lançadas no ambiente, além de evitar a deterioração dos alimentos. Desta forma, as pesquisas sobre embalagens estão tendo grande foco na elaboração de filmes e revestimentos principalmente a base de polímeros, como os polissacarídeos, proteínas e lipídeos devido a sua biodegradabilidade (SANTANA et al, 2013).

Os biofilmes também possuem características determinantes para a sua utilização como material de embalagem, conferindo aos produtos propriedades mecânicas devido ao manuseio a que estão sujeitos os produtos durante sua distribuição e comercialização, bem como podem conferir propriedade ótica (opacidade). Estas propriedades funcionais são influenciadas pelas condições de processos e pela formulação, em especial pelo plastificante, necessária à obtenção de materiais manuseáveis (OLIVEIRA; NUNES, 2011)

De acordo com Villadiego et al. (2005) revestimentos biodegradáveis quanto a sua composição são classificados em:

1^a Hidrocolodais: Filme a base de polissacarídeos ou proteínas, que apresentam baixa permeabilidade ao oxigênio, dióxido de carbono e lipídeos e tem barreira ao vapor de água;

2^a Lipídeos: São compostos de lipídeos e apresentam barreira ao vapor de água por suas características hidrofóbicas;

3^a Compostos: A base de proteínas, lipídeos ou polissacarídeos mais lipídeos.

Na formação dos biofilmes algumas substâncias são componentes importantes na sua formação, tais como os plastificantes, substâncias que são utilizadas na sua montagem e que não podem ser voláteis, possuir alto ponto de fusão e que quando adicionadas a outros materiais mudem sua composição física e ou, mecânicas, como por exemplo o sorbitol ou glicerol. Estes plastificantes, irão atuar nas pontes de hidrogênio, reduzindo as forças intermoleculares ao longo da cadeia do polímero, melhorando nessa embalagem suas características mecânicas como flexibilidade, força e resistência (MATTA, 2009).

Uma das formas normalmente empregadas para a elaboração dos revestimentos biodegradáveis obtidos em laboratório é o método de *Casting*, que consiste no preparo de uma solução coloidal da macromolécula e aditivos, aplicação dessa solução formadora do filmes sobre uma superfície lisa e esperar a secagem. Já na indústria os filmes são geralmente obtidos por extrusão e co-extrusão para filmes de multicamadas (MONTERREY; SOBRAL, 2000)

Os revestimentos comestíveis devem apresentar certas peculiaridades como serem invisíveis, terem aderência suficiente para não serem facilmente removidos no manuseio e não introduzirem alterações no sabor dos produtos onde serão utilizados, polissacarídeos de origem animal têm sido avaliados como uma alternativa consideravelmente econômica e eficiente para esse fim, tendo a quitosana o composto mais pesquisado. Um filme de quitosana, é descrito como transparente e flexível, com propriedades funcionais que incluem retardar a migração de umidade, o transporte de gases (O₂, CO₂), a migração de óleo ou gordura, o transporte de solutos, oferecer uma integridade estrutural adicional aos alimentos, podendo também reter compostos aromáticos e carregar aditivos alimentícios ou componentes com atividade antibacteriana ou antifúngica (MIRANDA, 2006).

Portanto, ainda que os biofilmes não substituam totalmente as embalagens plásticas tradicionais, eles poderão contribuir significativamente para a redução de seu uso e, mais que isso, atuar como suportes na liberação controlada de substâncias ativas que evitem o desenvolvimento de microrganismos, além de limitar a migração de umidade e aromas.

4.5 O uso de defumação para produtos cárneos.

A defumação pode ser empregada como uma operação final de processamento, com o objetivo de usar um método a mais de conservação, durante esse processo o aroma dos produtos defumados é obtido em função da presença de compostos carbonílicos, diacetil, vanilina e alguns ácidos orgânicos (ALENCAR, 1997).

A defumação é um processo usado nos alimentos para aumentar sua vida de prateleira. Nos alimentos, a defumação convencional está sendo substituída pelo emprego de aroma de fumaça, ou fumaça líquida saborizante, e proporcionam ao produto final uniformidade de sabor, cor, deposição de substâncias antioxidantes e

antimicrobianas (GONÇALVES; PENTRINCE-HERNADEZ, 1998). A defumação de alimentos por meio de aspersão de fumaça (defumação convencional) está sendo substituída pelo emprego do aroma líquido de fumaça (fumaça líquida), principalmente pela ausência de compostos cancerígenos e pelo mesmo perfil aromático da fumaça tradicional (GONÇALVES; CEZARINI, 2008).

Metri et al (2006) ao elaborarem hambúrguer de carne caprina, determinaram que a qualidade bacteriológica do produto caprino defumado, pode estar relacionada com a utilização da fumaça líquida durante o processo de defumação, uma vez que se trata também de um produto com propriedades antimicrobianas. Já Roça (1999), em sua pesquisa com carne de capivara defumada, observou que a cor e aparência geral dos produtos, da paleta defumada submetida à maturação inicial com cloreto de cálcio apresentou melhor aparência e cor mais característica de produto curado em comparação a copa defumada submetida à maturação inicial com cloreto de cálcio.

5 MATERIAL E MÉTODO

5.1 Preparações da matéria-prima dos resíduos da carcinicultura.

A matéria-prima empregada para extração da quitina foram os exoesqueletos da espécie *Litopenaeus vannamei* (camarão marinhos), cedido pelos boxes de comercialização do camarão no mercado público de pescados, no bairro de Tambaú, da cidade de João Pessoa. As cascas obtidas foram manualmente lavadas para retirada de resíduos de carne e corpos estranhos, foram transportados para o Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal da Paraíba em caixas térmicas e armazenadas sob refrigeração ($\approx -10^{\circ}\text{ C}$) até o seu uso.

Para elaboração da farinha exoesqueleto de camarão, o material recolhido foi seco em bandejas de alumínio (30 x 40 cm) e postos ao sol por três horas. Em seguida os exoesqueletos foram colocados em estufa à temperatura de 70° C por 18 horas. O material seco foi triturado em liquidificador, seguida por moagem em moinho elétrico. O pó resultante foi peneirado em peneira granulométrica (latão) de abertura de 0,150 mm (100 mesch) segundo Assis e Brito (2008).

5.2 Obtenção da quitina e transformação da quitina em quitosana.

O processo de obtenção de quitina seguiu respectivamente as etapas: a) desmineralização, b) desproteinização, c) desodorização, d) transformação da quitina em quitosana (ASSIS; BRITO 2008).

a) Desmineralização: Se deu pela adição de 1,0 L de solução aquosa de HCL em cerca de 140g do material seco moído. A mistura foi mantida na temperatura ambiente, sob agitação por duas horas. O pó desmineralizado foi filtrado e lavado com água corrente até a neutralidade do filtrado, seguido de nova secagem em estufa a 30°C .

b) Desproteinização: Esta etapa foi realizada por suspensão do material desmineralizado seco em um litro de solução aquosa de NaOH a 15% (v/m). Esta mistura foi aquecida a 65°C e mantida sob agitação por três horas. Em seguida o material foi filtrado e lavado em água corrente até a neutralidade do filtrado. Seguiu-se nova secagem, conforme descrita no item anterior.

c) Desodorização: Seguiu-se suspensão do material desproteinizado seco em um litro de solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,36% (v/v). A mistura foi mantida por agitação por duas horas, seguida por secagem a 80 °C por quatro horas.

d) Transformação da quitina em quitosana: A reação de transformação da quitina em quitosana por desacetilação da quitina, se deu em solução aquosa de NaOH a 40% (v/m) e 0,5 de Boro hidreto de sódio (NaBH₄). A mistura foi aquecida a 115 °C e mantida sob agitação constante por seis horas. O material foi filtrado e lavado abundantemente com água corrente até a neutralidade do filtrado, seguida de lavagem com metanol e secagem a temperatura ambiente.

5.3 Caracterização da quitosana

Para realizar a caracterização da quitosana foram feitas análises de cristalidade (difração de raios-x); Análise condutimétrica, Espectroscopia de infravermelho com razão de absorbância de 1235 cm⁻¹ / 1450 cm⁻¹ de acordo com Tonhi (2002), Ensaios de viscosidade específica (SIGNINI; CAMPANA-FILHO, 1998), e calorimetria exploratória diferencial - DSC), de acordo com a metodologia descrita por Antonino (2007).

5.4 Elaboração do biofilme de quitosana

A solução filmogênica para elaboração do biofilme de quitosana foi preparada por dissolução e homogeneização de 2g de quitosana e homogeneizada com 100 ml de ácido acético a 1% e ácido cítrico a 1%, formando uma solução de 20 mg/mL. A solução foi submetida a agitação por 24 horas para obter o gel de quitosana, seguindo a metodologia descrita por Assis (2009) para então ser adicionada a fumaça líquida a solução com agitação por mais uma hora. Para determinação da quantidade de fumaça adequada a montagem dos filmes foram testadas concentrações de 5 a 20%, para cobertura das salsichas, sendo efetivamente testadas apenas as concentrações de 5%, 7% e 10%. Posteriormente a solução foi colocada em formas de teflon com medidas externas de 20 x 31 x 4 cm e medidas internas de 18 x 27 x 3,5 cm, colocados em estufa a aproximadamente 35 °C, para obtenção dos filmes a serem utilizados na cobertura de salsichas de acordo com a técnica de cast descrita por Gonçalves e Prentice-Hernandez (1998). Foram testados filmes de quitosana com e sem adição de plastificante sorbitol 2% (p/p) de glicerol para cada grama de quitosana utilizada.

5.5 Caracterização dos biofilmes de quitosana acrescidos de fumaça líquida com e sem plastificante.

A caracterização dos filmes de quitosana foi realizada quanto à: a) Espessura; b) Solubilidade em água; c) Opacidade e d) Propriedades mecânicas, Segundo metodologia descrita por Batista, Tanada-Palmu e Grosso (2005) e Davanço, Tanada-Palmu e Grosso (2007).

a) Espessura: A espessura foi obtida pela média dos valores de dez pontos aleatórios em diferentes segmentos do filme, utilizando-se um micrômetro manual marca Digimess.

b) Solubilidade em água: A solubilidade em água foi realizada em triplicata, os filmes foram cortados com 2cm de diâmetro e imersos em 50 ml de água destilada, mantidos sob agitação lenta e periódica por 24 horas á temperatura ambiente (25 °C) em banho-maria. Os fragmentos restantes foram então retirados do banho e secos em estufa a 105°C por 24 horas para determinar a massa seca final, e comparados a massa seca inicial.

c) Opacidade: A opacidade dos filmes foi determinada utilizando-se um colorímetro. As determinações foram feitas em triplicatas após calibração do aparelho com fundo padrão branco e um fundo padrão negro. A opacidade foi determinada pelo software disponível no aparelho.

d) Propriedades mecânicas: As analises de tensão de ruptura (TR) e porcentagem de elongação (ELON) foram realizadas com o aparelho Universal de testes de materiais EMIC modelo DL-500 de acordo com o método padrão ASTM D882⁴. As amostras dos filmes foram cortadas, apresentando 7,5 cm de comprimento e 2,5 cm de largura.

5.6 Análise microbiológica das salsichas cobertas com biofilme de quitosana

Para realização das analises microbiológicas das salsichas com biofilmes, foram pesados 25g do produto, transferidos para frascos de Erlenmeyer contendo 225 mL de solução salina-peptonada, e após homogeneização, obtida a diluição 1:10 (10^{-1}). A partir desta, foram preparadas as demais diluições para as determinações microbiológicas, para contagem total dos seguintes microrganismos: contagem total de coliformes a 45 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutor e *Salmonella* sp

segundo a metodologia APHA (2001) utilizando-se como padrão para a qualidade higiênico-sanitária a Resolução da ANVISA nº 12 de janeiro de 2001.

6.0 Atividade antimicrobiana do biofilme de quitosana

A atividade antimicrobiana dos filmes foi determinada mediante teste de difusão em ágar. As bactérias foram cedidas pelo Laboratório de Genética de Microrganismos do CCEN/DBM da UFPB, adquiridas da American Type culture collection (ATCC) para as suspensões bacterianas de *Escherichia coli* ativa ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25926. As culturas bacterianas ativas foram inicialmente tratadas numa suspensão em caldo nutritivo e semeadas em superfície de placas contendo ágar Mueller-Hinton e posteriormente foram adicionados fragmentos do biofilme acrescido de fumaça líquida a 5%, 7% e 10% acrescidos ou não de plastificante (sorbitol) sobre a placa com a bactéria, sendo as análises realizadas em duplicata. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C, por um período de 24 horas de acordo com Botre *et al.* (2010).

6.1 Teste de aceitação

Para avaliar os efeitos do biofilme de quitosana acrescido de fumaça líquida nas salsichas, foi utilizado um teste de aceitação, constituído de uma escala hedônica de nove pontos, variando de “gostei extremamente” (nove pontos) até “desgostei extremamente” (um ponto), avaliando os parâmetros de aroma, textura, aparência, aceitação global e sabor. As amostras foram julgadas por 96 provadores não treinados. O teste foi realizado no laboratório de Analise Sensorial da Universidade Federal da Paraíba, onde as amostras foram avaliadas, na mesma seção, por cada provador, servidas de forma monádica, em copos descartáveis de 50 mL, codificadas com números aleatórios de três dígitos. Protocolo de pesquisa APROVADO pelo Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos do Hospital Universitário Lauro Wanderley-CEP-HULW, da Universidade Federal da Paraíba, CAAE 26122513.9.0000.5183.

7.0 Analises estatísticas

Os resultados referentes a esta pesquisa, foi submetido a análise de variância (ANOVA), e a comparação entre as médias feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa ASSISTAT, desenvolvido pelo Departamento de

Engenharia Agrícola do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Para Analise do Mapa de Preferência Interno ou Analise de preferencia multidimensional, os dados de aceitação (teste do consumidor) foram organizados numa matriz de amostras (em linhas) e consumidores (em colunas) e submetidos a analise de componentes principais (ACP) de acordo com Sales et al (2008), utilizando o programa Grafpad versão prisma seis.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCC, Associação Brasileira de Criadores de Camarão. Acesso : www.abcccam.com.br, em 10 de Novembro de 2013.

ABNT. **Associação Brasileira de Normas Técnicas. Resíduos sólidos- Classificação, NBR 1004.** Acessado em <http://www.aslaa.com.br>, em 20 de Março de 2010.

ABREU, F. O. M. S.; CAVALCANTE, L. G.; DOUDEMENT, P. V.; CASTRO, A. M.; NASCIMENTO, A. P. Propriedades e Características da Quitosana obtida a partir do exoesqueleto de caranguejo uça utilizando radiação de microondas. **Revista Polímero**, v. 23, n. 5, p. 630-635, 2013.

ABREU, F. R.; CAMPANA-FILHO, S.P. Preparation and characterization of carboxymethylchitosan. **Polímeros: Ciência Tecnologia**, v.15, n.2, p.79-88, 2005.

AFSHIM, J. ; REZA.Z.; SAFARMASHAEI, S. Microbiological study of cocktail sausage during shelf life. **Middle-East Journal of Scientific Research**. v.7, n.6, p. 1056-1060, 2011.

ALBUQUERQUE, R.B.; SOUZA, E.L.; STAMFORD, T.L.; STAMFORD, T.C. Perspectiva e potencial aplicação de quitosana como inibidor de *Listeria Monocytogenes* em produtos cárneos, **Revista Iberoamericana Polímeros**, v.10, n.4, p. 264-270, 2009.

ALENCAR, N. **Embutidos e defumados de carne suína.** Belo Horizonte. SENAR – AR/MG, 128 p, 1997.

ALTIOK, D. ALTIOK, E.; TILHMINHIOGLU,F. Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing application. **Journal Material Scientific: Science in Medicine**, v.21, p.2227-2236, 2010.

ANTONINO, N. A. **Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana do exoesqueleto de camarões oriundos da indústria pesqueira Paraibana.** 2007.88p. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

ARAÚJO, Y. L. M. ; SOUZA, C.O.; DRUZIAN, J.E; PADILHA.F.F.; ORELHA.S.C.; Uso de biofilme de amido a base de própolis vermelho para conservação de folhas de alface. **Scientia Plena**, v.8, n.12, p.1-12, 2012.

ASSIS, A.S.; STAMFORD, T.C.; STAMFORD, T.L.M. Bioconversão de resíduos de camarão *Litopenaeus vannamei* (Boone,1931) para produção de biofilme de quitosana. **Revista Iberoamericana Polímeros**, v.9, n.5, p.480-499, 2008.

ASSIS, A.S. **Produção e caracterização do biofilme de quitosana como envoltório protetor em morangos.** 2009.88p. Tese (Doutorado). Programa de Pós-graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Processo básico de extração de quitinas e produção de quitosana a partir de resíduos da carcinicultura. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.14, n.1, p.91-100, 2008.

ASSUNÇÃO, A.B. e PENA, R.S. Comportamento higroscópico do resíduo seco de camarão-rosa, **Ciência Tecnologia de Alimentos**, n.27, n.4, p.786-793, out.-dez, 2007.

AZEREDO, H. M. C; FARIA, J. A. F; AZEREDO, A. M. C; Embalagens ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.3, p. 337-341, 2000.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA,D.C.; COSTA,A.C.M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais, **Revista Eletrônica Materiais e Processos**. v.2, n.3, p.27-34, 2007.

BARBIERI, C.R.; OSTRENSKY, A.N. **Camarões marinhos engorda.** v.2. Editora Aprenda fácil, 2002.

BATISTA, J. A.; TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Efeito da adição de ácidos graxos em filmes a base de pectina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 781-788, 2005.

BERY,C.C.S.; CARVALHO,M.S.; SOUZA, D. C. L.; COSTA, A. A.; Estudo físico-químico da farinha de resíduo de camarão rosa e pistola para o consumo humano In: **Simpósio Latino Americano de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Ciencias dos Alimentos:** Abrindo caminhos para o desenvolvimento científico, Anais, 2005.

BOTRE, G.S.; SOARES, N.F.F.; CAMILLOTO,G. P.; FERNANDES, R.V.B.; Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pêra williams minimamente processada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.8, p.1814-1820, 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC no 12 de 02 de Janeiro de 2001.http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm em 26/01/2010.

CAMEL, M.B.; VALDUGA, M.G.; CICHOSKI, A.T.; TONIAZZO, A.J.; VALGUGO, G.; CAMSIAN, E.; OLIVEIRA, R.L. Influência do Potencial antioxidante de extrato de erva-mate (*Ilex paraguaiensis* st hil) em frango assado, armazenado e reaquecido. **Brazilian Journal of Food**, v.23, n.2, p.297-305, 2012.

CAMPANA, S.P.; BRITO.D.; CURTI,E.; ABREU,F.R.; CARDOSO,M.B.; BATTISTI,M.V.; SIM,P.C.; GOY,R.C.; SIGNINI,R.; LAVALLI,R.L. Extração, Estrutura e Propriedade de α e β -Quitina. **Química Nova**, v.3, n.3, p.644-650, 2007.

CASTRO, A.A.; PAGANI, G.D. Secagem e composição química da cabeça de camarão (*Litopenaeus vannamei* Boone) a diferentes temperatura. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.6, n.2, p.123-129, 2004.

CARVALHO,T.V. **Biomateriais a base de quitosana de camarão e bactérias para remoção de metais traços e petróleo.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências marinha tropicais do Instituto de ciências do mar da Universidade Federal do Ceará, 2006.

CAVALCANTE, J.M; MORAIS, A.S.; RODRIGUES, M.C.P. Efeito da adição de amêndoas de castanha de caju nas propriedades sensoriais do iogurte adoçado com mel. **Revista Brasileira Agroindustrial**, v.3, n. 1, p 1-14, 2009.

CHEN, C.; P.; WANG, B.; J. WENG., Y.; M. Physicochemical and antimicrobial properties of edible aloe/gelatin composite films. **Journal Food Science & Technology**.v.45, p.1050-1055, 2010.

CIROLINI, A.; FRIES, L.L.M. TERRA, N.N.; MILANI, L.I.E.; URNAU, D.; SANTOS, B.A.; CERVO, G.D.; REZER, A.P.S. Salame tipo italiano elaborado com cultura stater nativa. **Ciência Tecnologia Alimentos** v.30, suplemento1, p.171-179, 2010.

CHIROL,K.A. **Rendimento, composição química e perfil lipídico do camarão *Litopenaeus vannamei* de cultivo orgânico e convencional.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, 2007.

COSTA,A.O.R.; ANDRADE,D.R.V.; VIDAL,M.V.; CORDEIRO,C.A.M.; SOUZA,G.ERTHAL,M.; SOUZA,C.L.M. Defumação de filés de piau-vermelho (*Leporinus copelandii*) com o uso e fumaça liquida. **Revista Ceres**, v.55, n.4, p. 251-257, 2008.

COSTA, T. L. E.; OLIVEIRA, T. A.; SANTOS, F.K.G; AROUCHA, E. M. M.; LEITE, R. H. L. Avaliação de coberturas comestíveis compostas por quitosana e argila no revestimento em tomates sob refrigeração pelo método dipping. **Revista Verde**, v. 7, n. 5, p. 12-19, 2012.

CUNHA,F.S.A.; RABELLO,C.B.; DUTRA,W.M.; LUDKE, M.C.M.M.; LOURENÇO, R.R.S.; FREITAS, C.R.G.; Desempenho e características da carcaça de frango de corte alimentados com dietas contendo farinha de resíduos de processamento de camarão *Litopenaeus vannamei* . **Acta Scientiarum Animal Science**. v. 28, n.3, p. 273-279, 2006.

DAGUER,H.; SILVA, H.D.; HIGASHIYAMA, E.T.; ZANETE, C.M.; BERSOT, L.S. Qualidade de produtos cárneos fabricados sobre inspeção federal no estado do Paraná. **Ciencia Animal Brasileira** v. 12, n. 2. P. 359-364, 2011.

DAMASCENO, K.S.L.S.; ANDRADE, S.A.C.; STAMFORD,T.L.M. Aproveitamento de resíduos de camarão. **Boletim CEPPA**, v.27, n.2, p. 213-224, 2009.

DAMIAN, C. **Efeito da quitosana na digestibilidade aparente da Gordura e na qualidade de salsichas frankfurt** . 2005. 155p. Tese (Doutorado), Pós-graduação de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis,2005.

DIAS, H.M.; SOARES, M.L.; NEFEA, E. Conflitos socioambientais: O caso da Carcinicultura no complexo estuarino caravelas, Nova Viçosa/Bahia-Brasil. **Ambiental & Sociedade**, v.15, n. 1, p 111-113, 2012.

DEVLIEGHERE,F.; VERMEULEN,A.; DEBEVERE,J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables .**Food Microbiology**,v.21,n.6, p.703-714, 2004.

EMERECIANO, M.G.; SOUZA,M.L.R.; FRANCO,N.F. Defumação de ostras *Crassostrea gigas*: A quente e com defumação liquida. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n.2, p. 235-240, ABR./JUN. 2007.

FAI, A.E.C.; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD,T.M. Potencial Biotecnológico de quitosana em sistemas de conserva de alimentos. **Revista Iberoamerica Polímero**, v.9, n.5,p. 435-451, 2008.

FANIMO,A.O.; ODUGUWA,O.O.; ONIFADE, A.O. OLUTUNDE, T.O. Protein quality of shrimp-waste meal. **Bioscience Techonology**, v.72, p.185-188, 2000.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries and Aquaculture Department. Statistics. 2009.

FELTS,M.M.; SPILLER,V.R.; BEIRÃO,L.H.; BLOCK , J.M.; NINOW,J.L. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização do peixe. **Revista Brasileira Engenharia Ambiental**, v. 4, n. 6, p. 669-677, 2010.

FERNANDES,T.M. **Aproveitamento dos subprodutos da industria de beneficiamento do camarão na produção de farinha**. Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologia em Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, 2009.

FERNANDES, T.M.; SILVA, J.A.; SILVA, A.H.A.; CAVALHEIRO, J.M.O.; CONCEIÇÃO, M.L. Flour production from shrimp by-products and sensory evoluation of flour-based products. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. v. 48, n.8, p. 962-967, 2013.

FOGAÇA,F.H.S.; LEGAT,J.F.A. Ensilagem de resíduos do beneficiamento do camarão marinho. **I Simpósio Internacional sobre gerenciamento de resíduos de animais ordenamento territorial das produções animais e políticas públicas, relacionados ao gerenciamento dos resíduos de animais**, de 11 a 13 de Março de 2009. Florianópolis SC, Brasil, 2009.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**, 9^a ed. Rio de Janeiro: Ed. Livraria Atheneu, 1999.

GARCIA, R. B.; SILVA, D. L. P.; COSTA, M. Avaliação de géis obtidos a partir da acetilação da quitosana em meio heterogêneo. **Química Nova**, v. 31, n.3, p. 486-492, 2008.

GODOY, L.C.; FRANCO,M.L.R.; FRANCO,N.P.; SILVA, A.F.; ASSIS M.F.; SOUZA, N.E.; MATSUSHITA,M. VISANTAINER,J.V. Análise sensorial de caldos e canjas elaborados com farinha de carcaça de peixe: aplicação na merenda escolar. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.3, supl.1, p.86-89, 2010.

GONÇALVES, A. A.; PENTRICE-HERNANDÉZ,C. Defumação líquida de anchova (*Pomatomus saltatrix*): Efeitos do processamento nas propriedades químicas e microbiológicas. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.18, n. 4, p.1-15. 1998.

GONÇALVES, L. U.; VIEGAS, E. M. M. Produção, caracterização e avaliação biológica de silagens de resíduos de camarão para tilápia-do-nilo, **Arquivo Brasileira Medicina Veterinária Zootécnica**, v.59, n.4, p.1021-1028, 2007

GONÇALVES, A.A.; CEZARINI, R. Agregando valor ao pescado de água doce: Defumação de filés de Jundiá (*Rhamdia quelen*). **Revista Brasileira Engenharia de Pesca** v.3, n. 2, jul. 2008.

GONÇALVES1, A. A.; GOMES, P. A. Desenvolvimento de um produto de valor agregado: camarão cote butterfly . **Revista Brasileira Engenharia de Pesca**, v.3, n.1, jan. 2008.

GORTARI, M. C.; HOURS, R. A. Biotechnology process for chitin recovery out of crustacean waste: A mini review. **Eletronic Journal of Biotechnology**, v.16, n.3, p.1-18, 2013.

HENNING, E. L. **Utilização de quitosana obtida de resíduos de camarão para avaliar a capacidade de adsorção de íon ferro 3⁺**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

JERONINO, C.E.; BALBINO, C. P. Caracterização físico-químico de efluentes da carcinicultura e seus impactos ao meio ambiente. **Revista Eletrônica em Gestão Educacional e Tecnologia Ambiental**. v. 8, n.8, p. 1639-1650, 2012.

JIANG, S. Aquaculture, capture fisheries and wild fish stock. **Resource and Energy**, v. 32, p. 65-77, 2010.

LAVORGNA, M.; PISCITELLI, F.; MANGIA, C. P.; BUONOCORE, G. G. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p.291-298, 2010.

LEVIN,J. **Estatística aplicada a ciências humanas**. Editora Harbra, 2008.

LIRA, G.M; SILVA, M.C.D.; SILVA, K.W.B.; PADILHA, B.M.; CAVALCANTI, S.A.T.Q.; OLIVEIRA, K.I.V.; ALBUQUERQUE, A.L.I.; Avaliação da Qualidade físico-química e microbiologia do camarão espigão (*Xiphopenaeus kroyeri*, Heller 1862) in natura defumado. **Boletim CEPPA**, v. 31, n. 1, p. 151-160, 2013.

LIMA,S.B.P.; RABELLO,C.BV.; DUTRA,W.M.; LUDKE,M.C.M.M.; COSTA,.F.G.P. Valor nutricional da farinha de cabeça de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* para frangos de cortes, **Revista Caatinga**, v.20, n.3, p. 38-41, julhol/Setembro de 2007.

MACIEL,B.V.; FRANCO,T.T.; YOSHIDA,C.M.P. Sistema inteligentes de embalagens utilizando filmes de quitosana como indicador colirimétrico de temperatura. **Polímero**, v.22, n.4, p. 318-324, 2012.

MARTINS, L.L.; SANTOS,R.M.; OLIVEIRA,L.A. BEZZ,J. Avaliação do perfil bacteriológico de salsichas tipo “hot dog” comercializadas em embalagens a vácuo e a granel em supermercados dos municípios do Rio de Janeiro e Niterói RJ/Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.3, p. 215-220, 2008.

MATTA,M.D. **Caracterização de biofilmes obtidos a partir de amido de ervilha (*Pisum sativum*) associado à goma xantana e glicerol.**2009. 113p. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ),Universidade Federal da São Paulo, 2009.

MATHUR, N. K.; NARANG, C. K. Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. **Journal of Chemical Educacional**, v. 67, n.11, p.938-942, 1990.

MIRANDA, M.E.S.; MARCOLA,C.; RODRIGUES, C.A.; WILHEM,H.M.; SIERAKOWSKI,M.R.; BRESOLIN, T.M.B.; FREITAS,R.A. Chitosan and carboxymethylchitosan in: The role of carboxymethylthylation of chitosan in the thermal and dynamic mechanical properties of films. **Polymer Internacional**, v.55, p. 961-969, 2006.

MEILI,L.; MORTOLA,V.B.; PINTO,L.A.A. **Análise das isotermas de equilíbrio de pasta de quitosana**, XVIII Congresso Regional De Iniciação Científica e Tecnológica. Rio grande do sul, 2003.

METRI, J.C.; ANDRADE,S.A.C.; MACHADO,E.C.L.; SHINOHARA,N.K.S.; BISCONTINI,T.M.B. Controle bacteriológico de carne caprina para elaboração de hambúrguer caprino defumado, **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnica**. v.58, n.3, 2006.

MONTERREY, E.S.;SOBRAL, P.J.A. Preparo e Caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo para elaboração de biofilme. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, Brasília, v.35, n.1, p.179-189, jan, 2000.

MORAES, A.R.F.; VIDIGAL,M.C.T.R.; SOARES,N.F.F.; MORAES, C.P. ; MELO,N.R.; GONÇALVES, M.P.J. Desenvolvimento e avaliação de Filme antimicrobiano aromatizado para aplicação em massa de pastel. **Ciência Rural**, v.41, n. 3, p.537-543, 2011.

MOURA, C.; MUSZINSKI, P.; SCHMIDT, C.; ALMEIDA, J.; PINTO,L. Quitina e Quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: Avaliação do projeto em escala piloto, **Vertor**, Rio Grande, v.16, n.1/2,p. 37-45, 2006.

NATORI, M.M.; SUSSEL,F.R.; SANTOS, E.C.B.; PREVIERO,T.C.; VIEGAS, E.M.M.; GAMEIRO,A.H.; Desenvolvimento da carcinicultura marinha no Brasil e no mundo: Avanços tecnológicos e desafios. **Informações econômicas**. v.41, n. 2, p 61-73, 2011.

NEVES, A.C. SCHFFNER,L.K.; Wiest,A.M.; ARANTES, M.K. Otimização de processos de obtenção de quitosana a partir de resíduos da carcinicultura para aplicações ambientais. **Revista Brasileira de Energia Renováveis**. v.2, p. 34-47, 2013.

OLIVEIRA, B.S.; NUNES, M.L.; Avaliação de quitosana de caranguejo uça (*Ucides cordatus*) como biofilme protetor em caju. **Scientia Plena**, v.7, n. 4, p 2-6, 2011.

ORMOND,J.G.P.; MELLO,G.A.T.; FERREIRA,P.R.P.; LIMA,.C.A.O. A Carcinicultura Brasileira, **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 19, p. 91-118, mar. 2004.

OGAWA,M.; MAIA,E.L./FERNANDES,A.C.; NUNES,M.L.; OLIVERA,M.E.B.; FREITAS,S.T. Resíduos do Beneficiamento do camarão cultivado:Obtenção de pigmentos carotenóides. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.27, n.2, p.333-337,2007.

PAULINO, F.O.P.; SILVA, T.J.P.; MARSICO, E.T.; CANTO, A.C.V.C.S.; VIEIRA, J.P.; PEREIRA, A.P.A.A.S. Processamento e característica de qualidade de hambúrguer de carne de jacaré-do- pantanal (*Cariman crocodillus yacare*). **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, v. 18, n. 2/3, p. 129-132, 2011.

PESSATTI,.L.; STORI,F.T.; BONILHA. **Inventário da geração de resíduos de pescados em Santa Catarina**, Universidade do Vale do Itajaí,2000.

RAMIRÉZ,M.A.; CABRERA,G.; GUTIERRÉZ,A.; RODRIGUES,.T. Metodología de obtención de quitosana a bajas temperaturas a partir de quitina de langosta. **Cultura Tropicales**, v. 21 ,n. 1,p. 81-84, 2000.

RINAUDO, M.; DESBRIÉRES, J.; DUNG, P.; BINHTHUY,P.; DONG, N. T. Characterization of chitosan: Influence of conic strength and degree os acetylation on chain expansion. **Internacional Journal of Biological Macromoléculas**, v. 15, n. 5, p. 281-285, 2001.

ROÇA,R.O.; VEIGA,N.; SILVA,P.B. E CERVI,R.C. Características sensoriais de carne defumada de capivara, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.34 n.3 , 1999.

ROCHA, D. M. Carcinicultura marinha: Realidade para o Brasil. Natal: ABCC, 2009. Disponível em: <<http://www.abccam.com.br/download/Carcinicultura%20Marinha%202009%20Fevereiro2010%20.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2012.

SALES,R.K.; VOLP, A;C;P; BARBOSA, K.B.F.; DANTAS, M.I.S.; DUARTE,H.S.; MININ, VP.R. Mapa de Preferência para sorvetes ricos em fibras. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. v. 28 supl. P. 27-31. 2008.

SAMPAIO,Y.;COSTA,E.F.; SAMPAIO, E.A.B.R. Impactos socioeconômicos do cultivo de camarão marinho em municípios selecionados do Nordeste brasileiro, **Revista Econômica Sociologia Rural** v.46 n.4, Brasília OUT./DEZ. 2008.

SACHINDRA,N.M.; SAKHARE,P.Z.; YASHODA,K.P.; RAO,N. Microbiological Profile of buffalo sausage during processing and storage. **Food Control**, v.26, p.31-35,2005.

SANTANA, M.C.C.C.; MACHADO, B.A.S.; SILVA, T.N.; NUNES, I.L.; DRUZIAN, J.I. Incorporação de urucum como aditivo antioxidante em embalagens biodegradáveis a base de quitosana. **Ciencia Rural**, v.43, n. 3, p. 544-550, 2013.

SEIBEL, N. F.; SOUZA-SOARES, L. A. Produção de Silagem Química com Resíduos de Pescado Marinho. **Brazilian Journal Food Technology**, n.150, 2003.

SIGNINI,R.; CAMPANA FILHO, S.P. Purificação e Caracterização de Quitosana Comercial. Polímeros: **Ciência e Tecnologia**, 1998.

SOARES, N.F.F.; SILVA, W.A; PIRES, A. C.S.; CAMILLOTO, G.P.; SILVA, P.S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**, v. 56, n.4, p. 370-378, 2009.

SOUZA,M.L.R; BACARIN,A.E.; MACEDOVIEGAS,E.M.; KRONKA,S.N. Defumação da tilapia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) inteira eviscerada e file: aspectos referentes às características organolépticas, composição centesimal e perdas ocorridas no processamento. **Revista Brasileira Zootécnica**,v.33, n.1,p.27-36,2004.

STEVANATO,F.B.; PETENUCCI, M. E.; MATSUSHITA,M.; MESOMO, M.C.; SOUZA, N.E.; VISANTAINER, J. E. L.; ALMEIDA, V. V.; VISANTAINER, J.V. Avaliação química e sensorial de farinha de resíduo de tilápia na forma de sopa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.3, p. 567-571, Campinas, 2007.

TIMOFIECSYK,F.R.; PAWLOWSKY,U. Minimização de resíduos na industria de alimentos revisão.**Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 2, p. 221236, JUL./DEZ. 2000.

TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G.K.; DUTTA, P.K. Preparation and physicochemical evaluation of chitosan (vinyl alcohol) pectin ternary film for food- packing applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n.3, p. 711-716, 2010.

VASCONCELOS, M.M.M.; SILVEIRA, V.M.M.M. Rendimento e composição química dos componentes estruturais do camarão branco *Litopenaeus vannamei* , cultivado no município de Acaraú/CE, In: **Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos**, 2004.

VIEIRA, S.G.A.; FOGAÇA,F.M.S.; FERREIRA,.I.A.; RODRIGUES,A. A. GOMES, T.N. **Técnica para elaboração de farinha de cabeça do camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*)** Circular técnica, nº 52, EMBRAPA, Teresina, Piauí, Dezembro de 2011.

VILLADIEGO,A.M.D.; SOARES,N.F.F.; ANDRADE,N.J. PUSCHMANN,R.; MININ,V.P.R.; CRUZ,R.Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios, **Revista Ceres**, v.52, n. 300, 2005.

VILLEN, R.A. **Tratamento biológico de efluentes** . Biotecnologia industrial. : processo fermentatativo e enzimático. São Paulo, Edgard Bluches, 2001.

9.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

ARTIGO 1

*Escrito segundo normas da revista: Polímeros

Filmes de quitosana extraídos de *Litopenaeus vannamei* (camarão marinho): Avaliação do efeito da adição de fumaça liquida.

RESUMO

Objetivo deste artigo foi extrair e caracterizar a quitosana obtida do exoesqueleto *Litopenaeus vannamei* (camarão marinho) para elaboração de filme biodegradável acrescido de fumaça liquida. Foram empregadas as metodologias de determinação da viscosidade, condutimetria, espectroscopia na região do infravermelho e difração de raio-x para caracterização do polímero e realizados os testes de resistência a tração, módulo elásticos, solubilidade, opacidade e espessura para caracterização dos filmes. Os resultados encontrados foram eficientes para determinação da quitosana, e compatíveis com a literatura quanto à caracterização de filmes de origem polimérica. Concluindo os analises mecânicas do filme biodegradável de quitosana apresentaram-se como de baixa elasticidade e alta resistência a tração, e aceitáveis quanto a opacidade, solubilidade e espessura.

PALAVRAS-CHAVE: Filme aromatizado, caracterização quitosana, propriedades mecânicas.

ABSTRACT

The purpose of this article was to extract and characterize chitosan obtained from the exoskeleton of marine shrimp *Litopenaeus vannamei* for preparing biodegradable film plus liquid smoke. Methodologies for determining viscosity, conductometry, spectroscopy in the infrared and x-ray diffraction to characterize the polymer were employed and performed tests of tensile strength, elastic modulus, solubility, opacity and thickness to characterize the films. The results were efficient for the determination of chitosan, and consistent with the literature regarding the characterization of polymeric films of origin. Completing the mechanical analyzes of biodegradable chitosan film is presented as a low elasticity and high tensile strength, and acceptable as opacity, solubility and thickness.

KEY-WORDS: Flavored Film, chitosan characterization, mechanical properties.

1 INTRODUÇÃO

Polímeros sintéticos convencionais levam mais de cem anos para se incorporar no ambiente quando descartados (DEBIAGI et al., 2012). A degradação destes materiais interfere de forma ampla na degradação da matéria orgânica, dai a gestão dos resíduos

sólidos poder atuar como agente para diminuir este impacto, mediante pesquisas que venham a desenvolver materiais biodegradáveis que possam substituir, incrementar e/ou desenvolver, para que os polímeros biodegradáveis possam ter aplicações na indústria ao passo que também possam minimizar o impacto ambiental negativo gerado pelo acúmulo dos polímeros sintéticos no ambiente (Li et al, 2011; ARAÚJO e SANTOS, 2011).

O uso de coberturas comestíveis elaboradas a partir de polímeros naturais e biodegradáveis tem se tornado recentemente alvo de pesquisas sobre polímeros, tais polímeros recebem esta conotação por terem sua degradação realizada por microrganismos (como bactérias, fungos e algas) e reações enzimáticas, e são alternativas eficientes para o prolongar a vida de prateleira de alguns alimentos (DIBIAGI, 2010). Estes polímeros podem ser classificados em quatro grupos de acordo com sua origem, podendo ser oriundos de fontes agrícolas (amido e celulose), sintetizados por bactérias, da mistura entre petróleo e biomassa (PLC- prolicapolactonas) ou de origem animal (quitina e quitosana) (MALI et al, 2010).

Dentre os materiais pesquisados para a produção de filmes biodegradáveis, a quitosana se apresenta como promissora em razão de ser facilmente obtida. Tem grande potencial como material de embalagem ativa devido à sua atividade antimicrobiana impermeabilidade ao oxigênio e constituir boa barreira a gases, porém sendo sensíveis à umidade e apresentando em alguns casos alta permeabilidade ao vapor de água (COSTA et al., 2012).

Este trabalho teve como objetivo a síntese da quitosana e caracterização de filmes biodegradáveis compostos por este polissacarídeo extraídos dos resíduos gerados pelo filetagem do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, acrescidos de fumaça líquida e sua avaliação no revestimento de salsichas. Foram avaliadas as propriedades mecânicas, de espessura, opacidade, solubilidade em água, bem como a caracterização da quitosana por difração de raio-X, viscosidade, espectroscopia no infravermelho, análise condutimétrica e DSC.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da quitina e transformação da quitina em quitosana extraída do exoesqueleto do camarão *Litopenaeus vannamei*.

O processo de obtenção de quitina obtida do exoesqueleto do *L.vannamei* foi realizada pelas seguintes etapas de: **a) desmineralização:** Adição de 1,0 L de solução

aquosa de HCl em cerca de 140g do material seco moído, **b) Desproteinização:** suspensão do material desmineralizado seco em um litro de solução aquosa de NaOH a 15% (v/m), aquecida a 65 °C e mantida sob agitação por três horas **c) Desodorização:** suspensão do material desproteinizado seco em um litro de solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,36% (v/v), agitado por duas horas, seguida secagem a 80 °C por quatro horas. **d) Transformação da quitina em quitosana:** Reação de transformação da quitina em quitosana por desacetilação alcalina aquosa de NaOH a 40% (v/m) e 0,5 de boro hidreto de sódio (NaBH₄), aquecida a 115 °C e mantida sob agitação constante por seis horas. O material foi filtrado e lavado abundantemente com água corrente até a neutralidade do filtrado, seguida de lavagem com metanol e secagem a temperatura ambiente, (ASSIS; BRITO, 2008).

Elaboração dos filmes biodegradáveis de quitosana acrescidos de fumaça líquida

A quitosana utilizada na produção dos filmes foi obtida conforme procedimento descrito por Assis e Britto, (2008), e seca em temperatura ambiente. A solução filmogênica para elaboração do biofilme de quitosana foi preparada por dissolução e homogeneização de 2g de quitosana e homogeneizada com 100 mL de solução feita com ácido acético e ácido cítrico a 1%, formando uma solução de 20 mg/mL. A solução foi submetida a agitação por 24 horas para obter o gel de quitosana, seguindo a metodologia descrita por Assis (2008) para então ser adicionada de fumaça líquida a 5%, 7% e 10%, permanecendo por mais uma hora de agitação. Posteriormente a solução foi colocada em formas de teflon com medidas externas de 20 x 31x 4 cm e medidas internas de 18 x 27 x 3,5 cm, colocados em estufa a aproximadamente 35° C, para obtenção dos filmes a serem utilizados na cobertura de salsichas de acordo com a técnica de cast descrita em Gonçalves e Prentice-Hernandez (1998). Foram testados filmes de quitosana com e sem adição de plastificante.

Caracterização da quitosana

Difração de raio-X

As análises de difração de raio X foram realizadas num difratómetro da marca Siemens Modelo D-5000, tubo de cobre, voltagem de 40 kV e corrente de 40 mA, utilizando ângulo de 2θ° e varredura de 5 a 40° por segundo. Foi empregado a determinação do grau de cristalidade, para se determinar o grau de desacetilação da quitosana, calculado a partir da equação:

$$I_{CR}\% = I_c - I_a / I_c \times 100$$

Viscosidade

Para determinação da viscosidade intrínseca $[\eta]$ foi utilizado o procedimento descrito por Santos et al. (2003), utilizando soluções de quitosana, com tampão de ácido acético como solvente nas concentrações de 0,5 a 2,5 g.L⁻¹ determinação esta empregada para calcular a massa molar da quitosana desacetilada a partir dos exoesqueleto de quitina extraídos do camarão marinho *L. vannamei*, os valores do tempo de escoamento empregados para determinação da viscosidade específica corresponderam á média de três repetições independentes.

Titulação condutimétrica.

A análise foi realizada utilizando 200mg de quitosana, agitadas em 40mL de solução de acido clorídrico a 0,005 mol L⁻¹ por 18 horas, tituladas com solução de hidróxido de sódio a 0,17 mol L⁻¹ a temperatura de 25 ± 0,1° C. As variações de condutância durante a titulação foram medidas por um eletrodo DMC-010, de acordo com a metodologia descrita em Santos et al (2003) para determinação do grau de desacetilação.

Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Aproximadamente 1,5 mg da amostras do material contendo quitosana extraída do exoesqueleto de camarão foram utilizadas para determinação das bandas nos espectros IV, utilizando um espectrofotômetro Bomen-Michelson FT-IR, MB 102 , de acordo com a metodologia descrita por Santos et al (2003).

Caracterização do filme

Espessura

A espessura do filme foi medida (média aritmética de dez medidas aleatórias sobre a área do filme), utilizando um micrômetro manual da marca DIGIMESS resolução de 0,001 mm, tendo os resultados expressos em mm.

Opacidade

A opacidade dos filmes foi determinada utilizando-se um colorímetro de marca Minolta módulo chrome CR 400. As determinações foram feitas em triplicatas após calibração do aparelho e calculadas como a relação entre a opacidade do filme sobreposto ao fundo padrão preto (P_{preto}) e um fundo padrão branco (P_{branco}). A opacidade foi determinada pelo software disponível no aparelho.

Solubilidade em água

A análise da solubilidade em água foi realizada em triplicata, os filmes foram cortados em alíquotas com 2cm de diâmetro e imersos em 50 ml de água destilada, mantidos sob agitação lenta e periódica por 24 horas à 25° C em banho-maria. Os fragmentos restantes foram retirados do banho e secos em estufa a 105° C por 24 horas para determinar a massa seca final, por diferença ao serem comparados a massa seca inicial.

Propriedades mecânicas

Para os ensaios mecânicos foram empregados corpos de prova de dimensões 2,5 x7,5 cm, para determinação dos testes de resistência a tração e módulo elástico, com comprimento de ensaio de 30 mm e velocidade de ensaio de 0,05mm/s. Utilizando um aparelho de ensaio EMIC linha DL-500 MF- Capacidade de velocidade máx de 5KN.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seguir serão apresentadas as técnicas propostas para caracterização de quitosana, como grau de desacetilação, baseadas em titulação conditímétrica, espectroscopia na região no infravermelho (IV), espectroscopia de ressonância magnética, termogravimetria entre outras (SANTOS et al., 2005). A determinação de difração de raio-X permite a distinção da quitosana uma vez que o grau de desacetilação (GD) e o índice de cristalinidade relativo são inversos, ou seja, quanto maior índice de cristalinidade menor será o grau de desacetilação, já que é característica das quitinas possuírem elevado grau de cristalinidade, sendo os termos IC e IA as intensidades dos sinais das regiões cristalinas ($2\theta \approx 20^\circ$) e amorfas ($2\theta \approx 10$ a 13°), respectivamente observadas na determinação e utilizados para determinação do grau de

cristalinidade. Na **figura 1** encontra-se o difratograma da quitosana analisadas, para amostra testada foi obtido o índice de cristalinidade, $I_{CR}\% 62,212$, com grau de desacetylização de 73,653 %, valor este compatível com os valores encontrados nos trabalhos de Costa e Mansur (2008) 68 % , Janegitz et al. (2007) ,Campana-Filho e Signini (2001) 76% de grau de desacetilação.

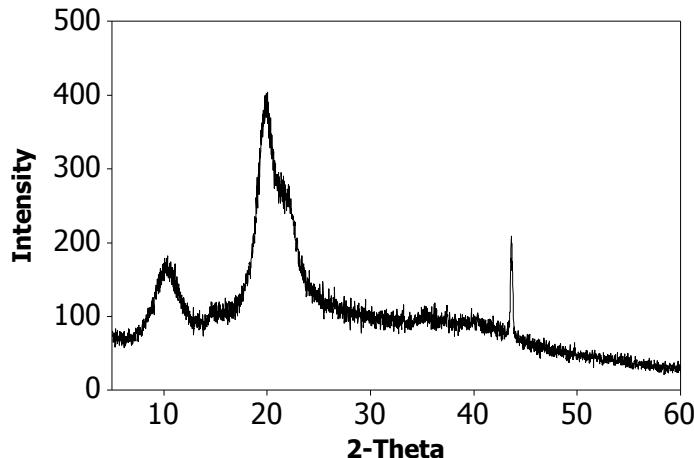


Figura 1. Difratograma de raio-x da quitosana extraída do camarão *Litopenaeus vannamei*.

A massa molar da quitosana extraída foi determinada mediante análise da viscosidade polimérica, embora não seja um método absoluto, a medida de viscosidade pode ser utilizada para determinar a massa molar média de polímeros, pela razão do tempo de escoamento da solução de viscosidade polimérica (BRITO; ASSIS, 2008). A viscosidade de uma solução pode ser descrita em função da determinação da viscosidade intrínseca $[\eta]$, e de sua concentração se não ocorrerem interações entre as macromoléculas. Nesse caso pode ser utilizada a equação de Huggins :

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + K [\eta] C$$

Em que: η_{sp} é a viscosidade específica; $\frac{\eta_{sp}}{C}$ é a viscosidade reduzida (mgL^{-1}); $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca (mgL^{-1}); K é a constante de Huggins e C é a concentração da solução (mgL^{-1}). A **figura 2** mostra a curva de viscosidade reduzida ($[\eta]_{red}$ versus a concentração da solução de quitosana da amostra do exoesqueleto de *L.vannamei*. A viscosidade intrínseca foi determinada pela extração dos dados de viscosidade a diluição infinita de acordo com a equação de Huggins, a reta obtida neste trabalho apresentou ($r > 0,87$), a viscosidade determinada mediante a equação citada pode então ser utilizada para determinação da massa molar viscosimétrica do polímero (M_z) pela equação de Mark-Houwink descrita abaixo segundo metodologia de acordo com Santos

et al (2003). O valor de massa molar encontrado na analise foi de $4,022 \times 10^4$ g/mol , valor esse condizente com o encontrado por Assis (2008) de $4,6 \times 10^4$ g/mol e Abreu et al., (2013) na ordem de grandeza de $10^4 - 10^6$ g/mol, ambos utilizaram quitosana extraída do *L.vannamei*.

$$[\eta] = \kappa (Mz)a$$

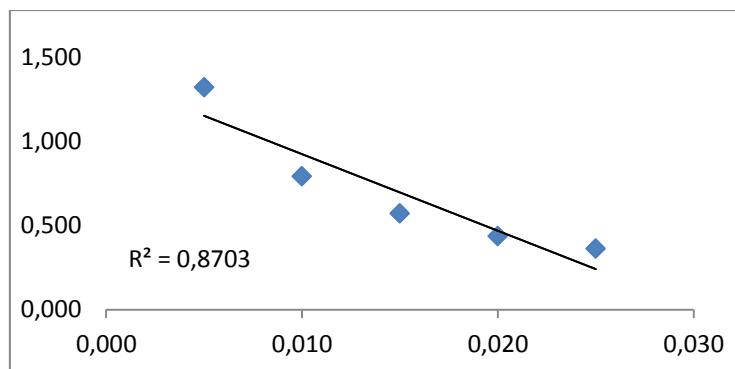


Figura 2: Curva da viscosidade reduzida versus concentração da amostra de quitosana (g/mL) extraída do camarão *Litopenaeus vannamei*

O grau médio de desacetilação para quitosana foi determinado mediante Santos et al. (2003). A figura 3 apresenta a curva condutimétrica obtida na titulação do polímero do *L. vannamei*, de acordo com essa figura o primeiro ponto de inflexão da curva representa a neutralização do HCl em excesso, o segundo a neutralização do grupo amino presente na quitosana. O número de grupos amino em relação aos grupos amida da cadeia polimérica foi calculado empregando-se a equação 1.

$$\%GD = \frac{16,1 [\text{base}] (V2 - V1)}{m}$$

Onde: 16,1 é a fração molar da quitosana; [base] é a concentração de NaOH consumido; (V2 – V1) é o volume de NaOH do segundo e primeiro ponto de inflexão, e m é a massa de quitosana utilizada na determinação

Empregando-se a equação 1 para o grau médio de desacetilação em porcentagem, foi obtido 74% de GD para amostra extraída do exoesqueleto do camarão *L.vannamei*, valores estes também encontrados por Janegitz et al. (2007) e aproximados ao valor encontrado por Abreu e Campana-filho (2005), caracterizando assim o polímero pesquisado neste trabalho como quitosana.

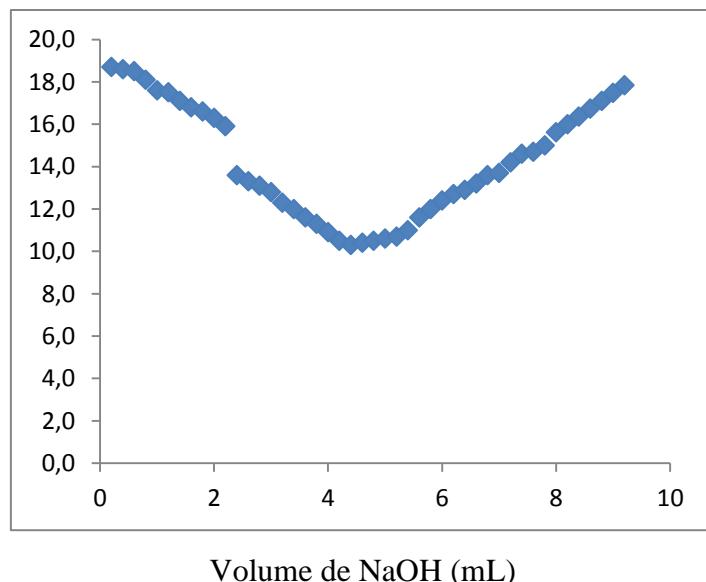


Figura 3: Curva de titulação condutimétrica das amostras de quitosana extraída do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*

As principais absorções características da quitosana são observadas nas faixas de 3600-3200 cm^{-1} (GARCIA; SILVA; COSTA, 2008), correspondendo à deformação axial dos grupos hidroxila e amino livre; 1690-16050 cm^{-1} a deformação axial C=O de amidas e 1640-1540 cm^{-1} devido a deformação angular do grupo NH de amina, e o grau de desacetilação da quitosana como sendo as faixas compreendidas entre 1420- 1320. Os resultados citados estão ilustrados na **figura 4** e foram semelhantes aos encontrados nas pesquisas de Tripathi, Mehrotra e Dutta (2010) para filmes de quitosana e pectina, e Han, Yan e Chen, (2011) para filmes de óxido de quitosana.

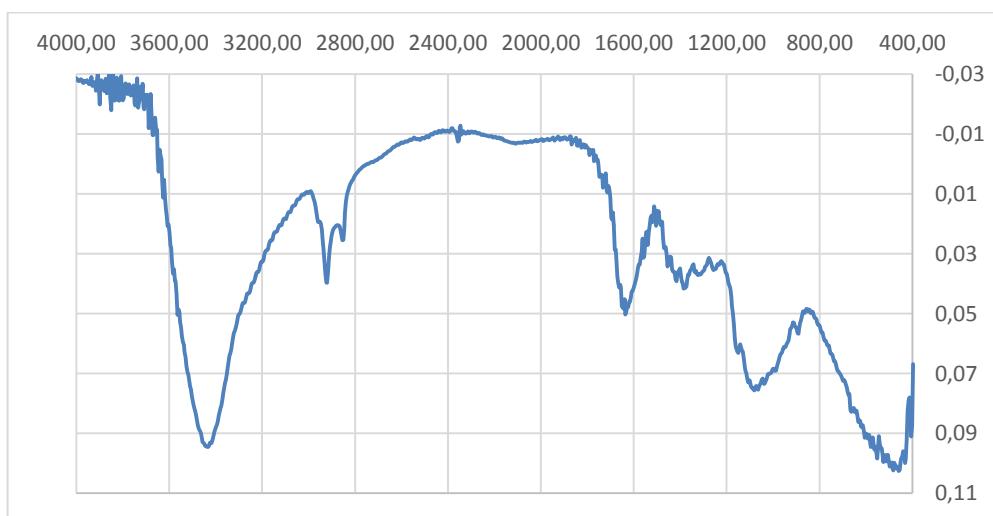


Figura 4: Espectro de absorção da região do infravermelho (IV) da amostra de quitosana extraída do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*

Os valores de espessura variaram de 0,030 a 0,047 mm para os filmes biodegradáveis contendo fumaça líquida com ou sem plastificante e foram comparados com os biofilmes sem fumaça líquida com ou sem plastificante, apesar dos biofilmes terem sido elaborados a partir dos mesmos valores pré-estabelecidos não foram encontrados diferenças entre as formulações, indicando que a adição de fumaça com ou sem plastificante não alterou a matriz polimérica no momento de produção das embalagens (**Tabela 1**).

Filmes de PVC, os normalmente empregados para embalar os alimentos, tornam-se importante comparar com os filmes nesta pesquisa, no sentido de denotar se foram mais transparentes ou não que filme biodegradável de quitosana. A opacidade dos filmes é uma propriedade crítica se o filme é utilizado como revestimento de superfície para alimentos. Filmes transparentes são caracterizados como de baixa opacidade (BATISTA, TANADA-PALMU, GROSSO 2005). Os biofilmes de quitosana contendo fumaça líquida obtiveram maior taxa de opacidade quando comparados aos biofilmes sem adição da fumaça. Nascimento et al. (2013), trabalhando com o efeito da adição de argila em filmes de quitosana encontrou opacidade que variou de 14% a 31,93%, valores inferiores aos encontrados neste estudo mesmo para os filmes onde não houve a incorporação da fumaça líquida (**Tabela 1**).

Quanto à solubilidade também não foi observado diferença entre os filmes com ou sem plastificante e com ou sem fumaça líquida, mas uma vez constatando que a adição da fumaça ou plastificante não alterou a matriz polimérica. No entanto, normalmente os polissacarídeos, como é o caso da quitosana são higroscópico e se desintegra rápido em água, demonstrando a capacidade biodegradável do filme de quitosana obtida a partir dos resíduos de *L.vannamei* (LAVORGNA et al., 2010)

Tabela 1.

Quanto às medições de resistência a tração os filmes biodegradáveis de quitosana apresentaram-se como de resistência média com valores que variaram de 21,34 a 39,54 %. Filmes com medidas baixas de resistência são caracterizados como menos rígidos, o que não foi encontrado neste trabalho. Botre *et al.*, (2010), ao pesquisar adição de óleo essencial de orégano em filmes biodegradáveis de matriz celulósica encontrou porcentagem de resistência à tração de 5,15% classificando sua embalagem como de menor rigidez e atribuindo este fato adição do óleo; os mesmos autores também encontraram altos valores quanto ao módulo elástico de 2727 (Mpa). Costa e Mansur (2008) ao elaborarem blendas de quitosana e poli álcool vinílico

encontraram valores de resistência a tração e módulo elástico semelhantes aos encontrados nesta pesquisa sugerindo que o uso de quitosana gera filmes com altas porcentagens de resistência e baixas medidas de elasticidade, necessitando assim de maiores estudos a respeito de como melhorar o potencial mecânico da quitosana no que diz respeito a elaboração de filmes biodegradáveis para acondicionamento de alimentos (**Tabela 1**).

Tabela 1- Propriedades dos filmes de quitosana com e sem plastificante, com e sem fumaça líquida.

Filmes	Espessura	Opacidade (%)	Solubilidade	Resistência a tração	Módulo elástico
Com plastificante e com Fumaça	0,030	60%	57,32%	39,54%	595,4 Mpa
Sem plastificante e com Fumaça	0,047	61%	57,70%	23,53%	278,4 Mpa
Com plastificante e sem Fumaça	0,040	40%	57,69%	38,57%	495,9Mpa
Sem Fumaça e sem Plastificante	0,040	43%	57,35%	21,34%	492,5Mpa

CONCLUSÃO

Todos as análises realizadas para caracterização da quitosana extraída do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* como condutimetria, espectroscopia na região do infravermelho, viscosidade e difração de raio-x, foram eficientes e reproduzíveis para determinar o grau de desacetilação da quitina, caracterizando o polímero como quitosana. Os filmes elaborados a partir do polímero de quitosana foram aceitáveis quanto às medidas de solubilidade, demonstrando o papel biodegradável do polímero, a opacidade foi aumentada devido à incorporação da fumaça líquida e a espessura esteve condizente como outros filmes de natureza polimérica. Quanto aos resultados mecânicos o filme biodegradável de quitosana apresentou-se como de baixa elasticidade e alta resistência a tração, necessitando assim de mais pesquisas que visem a melhoria destas medições.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pelo apoio financeiro outorgado durante a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSIS, A.S. **Produção e caracterização do biofilme de quitosana como envoltório protetor em morangos.** 2009.88p. Tese (Doutorado). Programa de Pós-graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.
- ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Processo básico de extração de quitinas e produção de quitosana a partir de resíduos da carcinicultura. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.14, n.1, p.91-100, 2008.
- BATISTA, J. A.; TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Efeito da adição de ácidos graxos em filmes a base de pectina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 781-788, 2005.
- BOTRE, G.S.; SOARES, N.F.F.; CAMILLOTO,G. P.; FERNANDES, R.V.B.; Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pêra williams minimamente processada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.8, p.1814-1820, 2010.
- CAMPANA, S. P.; SIGNINI, R. Efeito de aditivos na desacetilação de quitina. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. V.11, n. 4, p. 169-173, 2001.
- COSTA, E. S.; MANSUR, H. S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli (álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecidos. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 146-1466, 2008.
- COSTA, T. L. E.; OLIVEIRA, T. A.; SANTOS, F.K.G; AROUCHA, E. M. M.; LEITE, R. H. L. Avaliação de coberturas comestíveis compostas por quitosana e argila no revestimento em tomates sob refrigeração pelo método dipping. **Revista Verde**, v. 7, n. 5, p. 12-19, 2012.
- DEBIAGI, F.; MALI, S. GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F.; Efeito de fibras vegetais nas propriedades de compósitos biodegradáveis de amido de mandioca produzidos via extrusão. **Ciências e agrotecnologia**, v. 34, n. 6, p. 1522-1529, 2010.
- GARCIA, R. B.; SILVA, D. L. P.; COSTA, M. Avaliação de géis obtidos a partir da acetilação da quitosana em meio heterogêneo. **Química Nova**, v. 31, n.3, p. 486-492, 2008.
- GONÇALVES, A.A.; PENTRICE-HERNANDÉZ,C. Defumação líquida de anchova (*Pomatomus saltatrix*): Efeitos do processamento nas propriedades químicas e microbiológicas. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.18, n. 4, p.1-15. 1998.

HAN, D.; YAN, L.; CHEN, W.; LI, W. Preparation of chitosan graphene óxido composite film with enhanced mechanical strength in the wet state. **Carbohydrate Polymers**, v.83, n. 2, p. 653-658, 2011.

JANEGITZ, B. C.; LOURENÇÃO, B. C.; LUPETTI, K. O. FITIBELLO, O. Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 879-884, 2007.

LAVORGNA, M.; PISCITELLI, F.; MANGIA, C. P.; BUONOCORE, G. G. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p.291-298, 2010.

LIMAM, Z.; SELMI, S. SADOK, ABED, A.E. Extraction and characterization of chitin and chitosan from crustacean by-products: Biological and Phycochemical properties. **African Journal of Biotechnology Properties**, v. 10, n.4, p. 640-647, 2011.

MALI, S. GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F.; Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-156,2010.

NASCIMENTO, S. D.; OLIVEIRA, T.A.; SANTOS, F. K. G.; AROUCHA, E. M. M.; LEITE, R. H. L. Efeito da adição de argila nas propriedades do biofilme de quitosana. **Revista Verde**, v.8, n. 1, p. 306-312, 2013.

RINAUDO, M.; DESBRIÉRES, J.; DUNG, P.; BINHTHUY,P.; DONG, N. T. Characterization of chitosan: Influence of conic strength and degree os acetylation on chain expansion. **Internacional Journal of Biological Macromoléculas**, v. 15, n. 5, p. 281-285, 2001.

SANTOS, J.E., SOARES, J.P., DOCKAL, E.R., CAMPANA, S.P.; CAVALHEIRO, E.T., Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. V.13, n. 4, p. 242-249, 2003.

TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G.K.; DUTTA, P.K. Preparation and physicochemical evaluation of chitosan (vinyl alcohol) pectin ternary film for food- packing applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n.3, p. 711-716, 2010.

9 RESULTADOS E DISCUSSÃO

9.1 ARTIGO 2

*Escrito segundo normas da revista: Ciência e Agrotecnologia

Avaliação microbiológica de salsichas mistas tipo hot dog e filmes de quitosana acrescidos de aromatizantes (Fumaça líquida).

Michelle Rayssa Pereira de Melo¹, João Andrade da Silva², Cybelle Pereira de Oliveira³.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar a avaliação microbiológica de filmes de quitosana com e sem plastificante adicionada de fumaça líquida, para o recobrimento de salsichas visando o aumento da vida de prateleira do produto e aplicação antimicrobiano do biofilme, de acordo com Resolução da ANVISA nº 12 de janeiro de 2001. Foram realizadas análises microbiológicas nas salsichas antes e após acondicionamento. E a atividade antimicrobiana dos filmes sobre as cepas bacterianas: *Escherichia coli* ativa, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus* coagulase positiva, foi avaliado pela técnica de difusão em halo em meio sólido. Nos resultados, não foram observadas presença de coliformes a 45 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutor e não foi detectada a presença de *Salmonella spp*, quanto à ação antimicrobiana, foram encontrados halos de inibição no biofilme adicionado de fumaça líquida, havendo halo de inibição apenas para *Escherichia coli*. Conclui-se de acordo com os resultados encontrados não houve contaminação das bactérias testadas na embalagem de quitosana frente a de polietileno, mas a adição de fumaça líquida pode ser empregada na elaboração de embalagens aromatizadas sem prejuízo ao produto elaborado e sua interação com a matriz polimérica promoveu halo de inibição de *Escherichia coli*.

PALAVRAS-CHAVE: biofilme de quitosana, fumaça líquida Potencial antimicrobiano.

ABSTRACT

The objective of this study was the microbiological evaluation according to ANVISA Resolution on January 12, 2001, the use of chitosan films with and without plasticizer added to liquid smoke for coating sausages in order to increase the shelf life of the product application of antimicrobial and biofilm. Microbiological analyzes were performed on the sausages before and after preparation and antimicrobial activity of the films was determined by the diffusion test halo on bacterial strains: *Escherichia coli* active, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus* coagulase positive. In the results, not presence of coliforms at 45 °C, coagulase *Staphylococcus* positive *Clostridium* sulfite reducer was not detected the presence of *Salmonella* sp, as the antimicrobial activity were observed inhibition zones were found in biofilm added liquid smoke, with

halo inhibition only for *Escherichia coli*. It is concluded according to the results found no contamination of bacteria tested on the packaging of chitosan against polyethylene , but the addition of liquid smoke can be employed in the preparation of flavored packaging without prejudice to the manufactured product and its interaction with the polymer matrix halo promoted inhibition of *Escherichia coli*.

KEY-WORD: biofilms of chitosan, sausages, aroma liquid smoke, potential antimicrobial.

Introdução

No Brasil, o processamento industrial de pescado produz grandes quantidades de resíduos sólidos, que contêm materiais orgânicos e inorgânicos e geram grande preocupação no que diz respeito aos impactos ambientais negativos decorrentes da disposição desses materiais no ambiente, sendo as cabeças, escamas, vísceras e carcaças, os principais produtos resultantes do processamento do pescado (GODOY, 2010). De maneira que o desenvolvimento de alternativas tecnológicas que possam produzir produtos como, farinhas, substâncias farmacêuticas, alimentícias e embalagens biodegradáveis e revestimentos a base de polímeros, mostram-se extremamente viáveis em virtude de suas propriedades e biodegradabilidade. Esse resíduo pode ser utilizado na elaboração de biofilmes (ABREU et al., 2013).

A embalagem adequada é necessária para que seja garantida a conservação dos produtos, bem como a manutenção da sua qualidade (FAI et al., 2008). Tradicionalmente, os materiais escolhidos para sua elaboração devem ter o mínimo de interação com o alimento, além de fornecer mecanismos de barreira à contaminação (microbiológica e química) e prevenção de seus próprios componentes ao alimento (AZEREDO et al., 2000). Assim, o uso de filmes e revestimentos utilizando polímeros biodegradáveis tem gerado um grande volume de pesquisas em ciências de alimentos, devido ao potencial de fornecer proteção ao ambiente pela diminuição do uso de plásticos usualmente utilizados na fabricação das embalagens para alimentos (COSTA et al., 2012). Portanto, filmes de polímeros biodegradáveis devem possuir a função de inibir ou reduzir a migração de umidade, oxigênio dentre outros, transportar ingredientes alimentícios como: antioxidante, antimicrobianos e flavorizantes, e/ou melhorar a integridade mecânica ou características de manuseio dos alimentos.

Novas tecnologias e pesquisas sobre embalagens tem despertado um grande interesse na elaboração de biofilmes para embalagem de alimentos, principalmente a

base de polímeros, como os polissacarídeos, proteínas e lipídeos devido à sua biodegradabilidade (VILLADIEGO et al., 2005). Dentre os biopolímeros destaca-se a quitosana, um copolímero de (1-4)-L-amino-2-deoxi- β -D-glucona (Dglucosamina) e um dos mais extensos polissacarídeos em biomassa, que pode ser obtido a partir de carapaças de crustáceos, como camarão, caranguejo e lagosta (SYNOWIECKI e KHATEEB, 2003).

Devido à sua habilidade de formar filme semipermeável, muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com a quitosana e além das várias potencialidades descritas na literatura também tem sido investigada por sua ação antimicrobiana, como uma alternativa para a substituição de compostos antimicrobianos artificiais. Os pesquisadores têm demonstrado que a quitosana é capaz de provocar a inibição do crescimento de vários microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Shigella dysenteriae*, *Aeromonas hydrophila*, *Fusarium* sp, *Alternaria* sp, *Helminthosporium*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ludwigi*, *Zygosaccharomyces baillii*, *Cryptococcus albidus*, *Candida* sp. e *Rhodotorula* sp. O mecanismo de ação desses microrganismos não está completamente elucidado. Alguns pesquisadores correlacionam a atividade antimicrobiana da quitosana pela formação de complexos polieletrolíticos que provavelmente se ligam seletivamente à superfície dos microrganismos inativando-os (ALBUQUERQUE et al, 2009). De acordo com Miranda (2004), em estudo utilizando quitosana, verificou a preservação de macarrão, arroz, sardinha e carne sem alterar o sabor, inibindo o crescimento de algumas bactérias e fungos diretamente responsáveis pela deterioração de alimentos.

O objetivo desse trabalho foi desenvolver um filme de quitosana para o recobrimento de salsichas mistas capaz de aumentar a vida de prateleira do produto. Foram realizadas a determinação do NMP de coliformes a 45 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutor e *Salmonella spp* em salsichas recobertas com o biofilme e avaliação antimicrobiana do próprio filme.

MATERIAL E MÉTODOS

Elaboração dos filmes

A quitosana utilizada na produção dos filmes foi obtida conforme o procedimento descrito por Assis e Britto (2008), e seca em temperatura ambiente. A solução filmogênica para elaboração do biofilme de quitosana foi preparada por dissolução e homogeneização de 2g de quitosana e homogeneizada com 100 ml de ácido acético a 1% e ácido cítrico a 1%, formando uma solução de 20 mg/ml. A solução foi submetida a agitação por 24 horas para obter o gel de quitosana extraída do exoesqueleto do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, seguindo a metodologia descrita por Assis (2008), para então ser adicionada de fumaça líquida a 5%, por mais uma hora de agitação. Posteriormente a solução foi colocada em formas de teflon com medidas externas de 20 x 31 x 4 cm e medidas internas de 18 x 27 x 3,5 cm, colocados em estufa a aproximadamente 35 °C, para obtenção dos filmes a serem utilizados na cobertura de salsichas de acordo com a técnica de cast, descrita por Gonçalves e Prentice-Hernandez (1998). Foram testados filmes de quitosana com e sem adição de plastificante sorbitol a 2% (p/p) para cada 2g de quitosana.

Avaliação microbiológica das salsichas

As análises microbiológicas das salsichas foram realizadas no laboratório de Microbiologia de Alimentos DEA/CT/UFPB em triplicata nas salsichas com e sem cobertura com o filme de quitosana extraída. Foram determinados, o número mais provável NMP para coliformes a 45 °C, determinação de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutor e *Salmonella* sp, seguindo a metodologia APHA (2001) utilizando-se como padrão para a qualidade higiênico-sanitária a Resolução da ANVISA nº 12 de janeiro de 2001, (BRASIL,2001). Para controle as salsichas foram analisadas quanto os micro-organismos citados antes da embalagem de quitosana com e sem plastificante, bem como foram analisadas semanalmente durante trintas dias para avaliar a ação do filme biodegradável de quitosana, sob refrigeração a temperatura de 7 °C.

Atividade antimicrobiana dos filmes

A atividade antimicrobiana dos filmes foi determinada mediante teste de difusão em ágar inoculadas em cepas cedidas pelo Laboratório de Genética de Microrganismos do CCEN/DBM da UFPB, adquiridas da American Type culture collection (ATCC) para as suspensões bacterianas de *Escherichia coli* ativa ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25926. Foram preparadas suspensão de bactérias em caldo nutritivo BHI semeadas em superfície de placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton. Em seguida foram adicionados pedaços do biofilme acrescido de fumaça líquida a 5% acrescidos ou não de plastificante, foi inserido meio de cultura sobre a placa com a suspensão bacteriana. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C, por um período de 24 horas. Para análise dos dados foi observada presença de halos de inibição.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Avaliação microbiológica das salsichas

Na **tabela 1** estão expostos os resultados das análises microbiológicas de *Salmonella* sp, coliformes a 45° C, *Clostridium* sulfito redutor e *Staphylococcus* coagulase positiva, em conformidade com os parâmetros exigidos pela RDC 12/2001 para salsichas de acordo com a ANVISA.

Para controle do experimento foi realizado análise microbiológica nas salsichas antes da cobertura com filme de quitosana, não sendo observado presença de coliformes a 45 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutor e não foi detectada a presença de *Salmonella* sp 25 gramas de amostra. Alimentos de origem animal podem desempenhar um importante papel na veiculação de coliformes a 45 °C e coliformes termotolerantes, mediante as boas ou más condições de higiene, e é relatado que a presença destes microrganismos em diferentes produtos cárneos, inclusive naqueles implicados em surtos de toxinfecção alimentar, indicam más condições higiênico-sanitária (SACHINDRA, *et al.*, 2005). Assim nesta pesquisa como não foi detectado o referido grupo, podemos dizer que o processamento da salsicha foi bem realizado e seguiu bons padrões higiênicos, ressaltando-se que existe a importância da qualidade da matéria-prima e do processo de manipulação higiênico na obtenção de produtos inócuos a saúde de consumidor (AFSHIM; REZA; SAEID, 2011).

Martins et al. (2008), ao analisarem salsichas tipo “hot dog” a granel e a vácuo encontraram 16 amostras contendo coliformes a 45 °C de 1 a 5×10^3 NMP para, nas 17 amostras analisadas, mostrando que as condições higiênicas foram insatisfatórias. Nesta pesquisa não foi detectada a presença dos micro-organismos antes de receber o biofilme de quitosana, não foram encontradas contagem de NMP coliformes a 45 °C, bem como para os demais grupos de micro-organismos analisados nas salsichas de acordo com a RDC nº 2 o que nos leva a inferir que foram então mantidas as boas práticas de fabricação e comercialização, visto que as salsichas foram adquiridas em comércio local. Nas salsichas cobertas com filme de quitosana adicionados de fumaça líquida a 5%, também não foram encontradas a presença dos micro-organismos analisados. Detectando apenas nas análises realizadas em trinta dias de estocagem, $1,1 \times 10^3$ NMP de coliformes fecais a 45° C no 30º dia de acondicionamento. Jay (2005) afirma que coliformes fecais têm sido usados para determinar condições higiênicas insatisfatórias em alimentos e presença potencial de patógenos.

Daguer (2011) ao examinar a qualidade de produtos cárneos no estado do Paraná observou contaminação microbiológica por coliformes fecais em cinco amostras analisadas dentre elas salsicha empregando embalagem de polietileno. O que foi considerado pelo autor, práticas deficientes de higiene pelos manipuladores nos estabelecimentos fabricantes dessas amostras, já quanto as contagens de *Salmonella* sp foram encontradas células vegetativas viáveis apenas para linguiça . Nesta pesquisa foi encontrado contagem de NMP de coliformes a 45 ° C no 31º dias de estocagem da salsicha coberta com filme de polietileno. Assim haja vista que as salsichas em embalagens de polietileno cobertas com filme plástico vendidas nos supermercados tem prazo de valide de até 10 dias, e que as salsichas cobertas com filme de quitosana apresentaram contagem apenas no 30º dia sob estocagem, denota um aumento na vida de prateleira da salsicha coberta com filme de quitosana. No entanto nas amostras controle observou-se crescimento de colônias que indica presença de fungos, avaliados a olho nu, para o experimento realizado após 14 dias de armazenamento, o mesmo não foi encontrado nas amostras cobertas com o filme de quitosana indicando que o mesmo atuou como barreira ao crescimento destes microrganismos, ainda que a legislação vigente não preconize a análise de fungos para salsichas de acordo com a RDC 12/2001.

A- Filme plástico no 21º dia**B-Filme plástico no 30º dia****C- Filme quitosana no 21º dia****D- Filme quitosana no 30º dia**

Figura 1 -A , B, C e D : Salsicha tipo hot dog cobertas com filme plástico de polietileno e filme de quitosana no 21º e 30º de estocagem .

Tabela 1. Analise microbiológica para salsichas mistas cobertas com filme de quitosana acrescido de fumaça líquida a 5%.

Analise					
<i>Salsicha antes das embalagens</i>		<i>Salsicha coberta filme quitosana</i>			
<i>Coliformes a 45º C</i>	<i>Máx 10³/g</i>	7 dias	14 dias	21dias	30 dias
		0,0	0,0	0,0	1,1x10 ³
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva					
Máx. 3x10 ³ /g		0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Clostridium</i> sulfito redutor					
	Máx. 5x10 ² /g	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Salmonella</i> sp	Ausência	*	*	*	*

*Indica resultado igual ao controle

Atividade antimicrobiana dos biofilmes- técnica de difusão em ágar

Os resultados obtidos do teste da eficácia do biofilme frente a colônias inoculadas no meio de cultivo reduziram carga microbiana apenas de *Escherichia coli* formando halo de inibição, tanto para os filmes sem plastificante quanto para do filme com plastificante, **Figura 2 e 3 pág. 53.**

Embalagens aromáticas constituem um tipo de embalagem ativa que melhora a aceitação sensorial de um determinado produto, além de minimizar o fenômeno denominado de “scalping” a sorção de aromas nos alimentos pelos materiais poliméricos das embalagens (SOARES *et al.*, 2009).

Nesta pesquisa buscou-se avaliar se a adição da fumaça líquida nos biofilme de quitosana com ou sem plastificante apresentaria potencial antimicrobiano. Altıok, Altıok e Tilhminliogu (2010) ao analisar a ação antibacterianas contra *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em biofilmes de quitosana acrescido de óleo de tomilho, observaram ação antimicrobiana contra todos os microrganismos testados, tendo ocorrido halo de inibição apenas contra *Escherichia coli*, nesta pesquisa. Botre *et. al.* (2010) pesquisaram a incorporação de óleo essencial de orégano em filmes biodegradáveis e verificou aparecimento de halos de inibição de *Staphylococcus aureus* e *Penicillium spp*, portanto para os dois trabalhos supra citados ambos os autores creditam a atividade antimicrobiana de seus filmes a adição dos óleos essências por possuírem compostos como carvaerol e timol que tem ação desestabilizadora de membrana e alteram o pH homeostáticos das células microbianas. Contudo mesmo os filmes de quitosana acrescidos de fumaça líquida não possuindo estes compostos, a adição da fumaça gerou halo de inibição leve contra *Escherichia coli*, bactéria ligada a determinados surtos alimentares, e como a fumaça líquida atua como composto aromático amplamente aceito e que melhora características organolépticas dos produtos sua adição e utilização como composto antimicrobiano, poder ser utilizada com objetivo de desempenhar tanto a função antimicrobiana como a função aromatizante. Esta também foi verificado por Paulino *et al.* (2008) ao acrescentar fumaça líquida nas concentrações de 15 e 30% impedindo a formação de microbiota no produto.

Araújo *et al.* (2012) utilizaram filme biodegradável de amido na conservação de alface e afirmaram que o fato do filme ser feito de amido pode estar relacionado à

preservação das folhas de alface. De acordo com Ciacco e Cruz (1982), a maioria dos amidos possui em sua composição 20-30% de amilose e 70-80% amilopectina, arranjo estrutural que favorece a formação de áreas cristalinas. Essas áreas cristalinas permitem manter a estrutura dos grânulos além de controlar o seu comportamento na água e os tornam relativamente resistentes às ações enzimáticas e químicas. Estes resultados demonstram que o efeito inibitório do composto bioativo pode também estar associado com a macromolécula utilizada na fabricação do biofilme (CHEN et al. 2010). Há quitosana outro exemplo polissacarídeo também é atribuído ação inibitória, portanto, tentou-se nesse trabalho verificar a interação da matriz polimérica da quitosana, com o aromatizante na formação de halos de inibição contra *Escherichia coli* ativa, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, entretanto a única interação da matriz polimérica da quitosana, com a fumaça líquida que produziu efeito inibidor ficou restrito a um único organismo.

Filmes de quitosana com função antimicrobiana como foi utilizado nesta pesquisa pode ter sua ação antimicrobianas relacionada com as interações eletrostáticas entre os grupos aminas da quitosana e os sítios aniónicos na parede celular do microrganismo com a estrutura polimérica durante o processo de elaboração dos filmes (LIMAN et al., 2011). Para Moraes et al. (2011), ao pesquisarem filmes antimicrobianos com aroma de pizza, encontraram halo de inibição contra *Penicillium* sp utilizando o ácido sórbico como antimicrobiano. Esse autor relata ainda que quanto maior a proporção do ácido e aroma acrescido, melhores resultados na formação do halo, provavelmente devido a abertura da cadeia polimérica promovida pelo aroma (GOMES et al., 2010).

Contudo mesmo os halos formados nesta pesquisa sendo relativamente pequenos, a fumaça pode ter atuado como composto de baixo peso molecular tal como os plastificantes utilizados na elaboração de vários tipos de biofilme, favorecendo as ligações entre os polímeros e o agente antimicrobiano aqui utilizado.

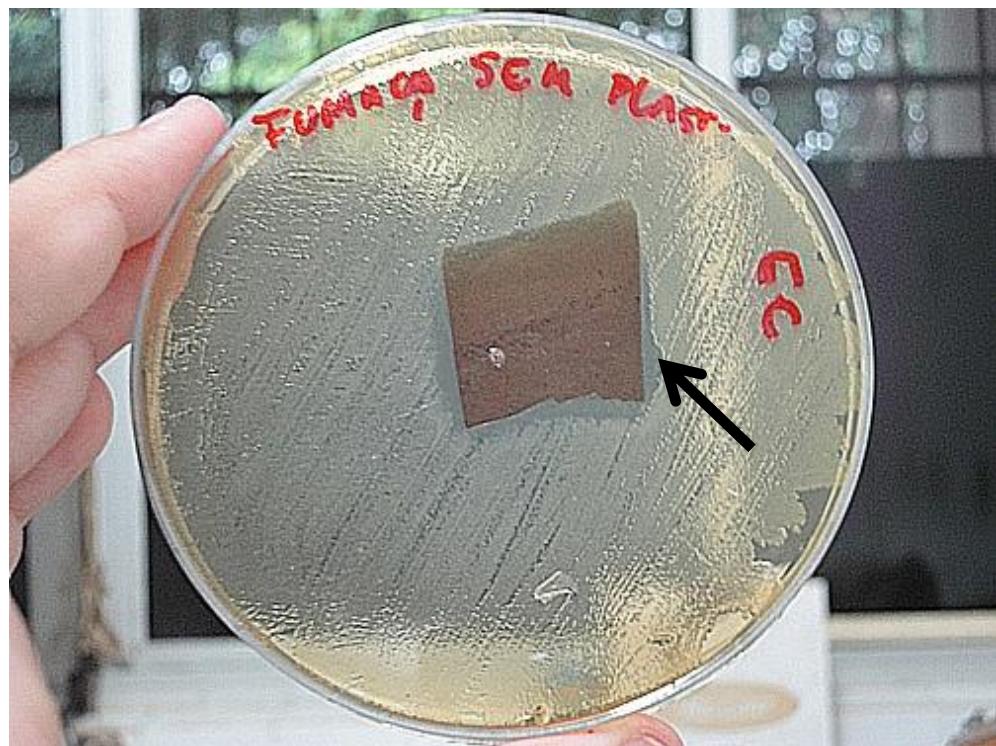


Figura 2: Teste de halo de inibição de *Escherichia coli* para biofilme de quitosana sem plastificante

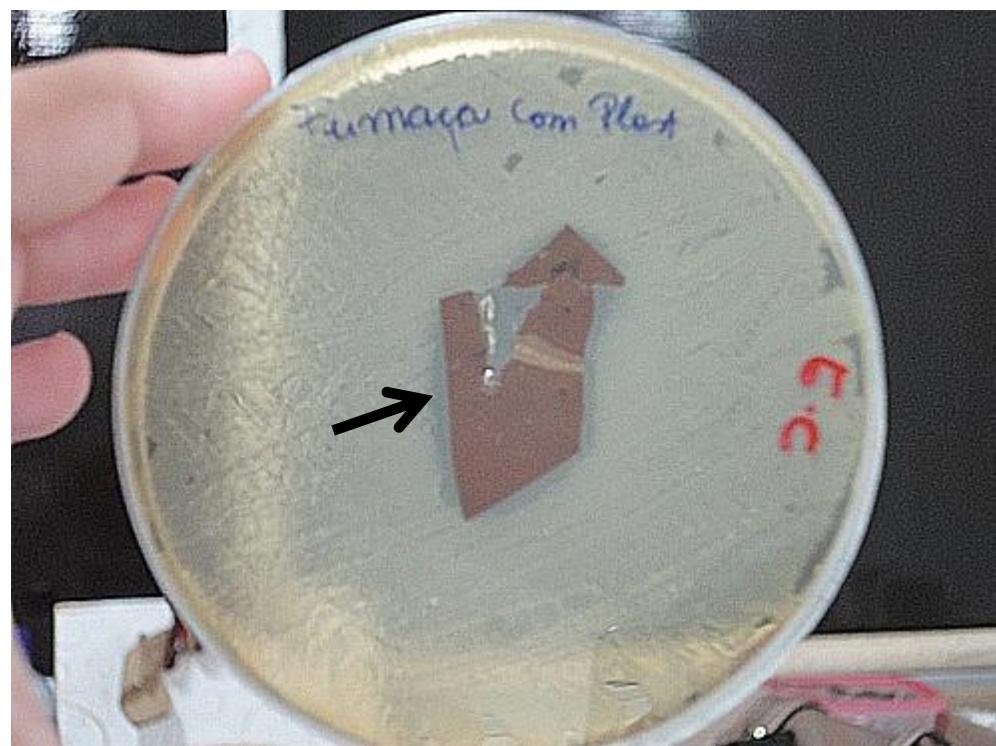


Figura 3: Teste de halo de inibição de *Escherichia coli* para biofilme de quitosana com plastificante.

CONCLUSÃO

As amostras de salsichas cobertas com filme de poliestireno e filme biodegradável de quitosana acrescido de fumaça líquida apresentaram-se em boas condições sanitárias durante os 30 dias de acondicionamento sob refrigeração, havendo crescimento de $1,1 \times 10^3$ para Coliformes a 45 °C no que diz respeito a RDC 12/2001. Filmes contendo quitosana e fumaça líquida com e sem plastificante apresentaram inibição de crescimento frente à *Escherichia coli*. Demonstrando que a utilização da quitosana pode ser potencializada como agente de segurança microbiológica e que quando acrescida de aromatizante melhora também sua ação para os filmes com e sem plastificante. Portanto, os resultados encontrados apontam como preconiza a literatura o potencial antimicrobiano do uso de quitosana e que a adição de fumaça líquida pode ser empregada na elaboração de embalagens aromatizadas sem prejuízo ao produto elaborado.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pelo apoio financeiro outorgado durante a realização deste trabalho.

REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

ABREU, F. O. M. S.; CAVALCANTE, L. G.; DOUDEMENT, P. V.; CASTRO, A. M.; NASCIMENTO, A. P. Propriedades e Características da Quitosana obtida a partir do exoesqueleto de caranguejo uça utilizando radiação de microondas. **Polímero**, v. 23, n. 5, p. 630-635, 2013.

AFSHIM, J.; REZA.Z.; SAFARMASHAEI,S. Microbiological study of cocktail sausage during shelf life. **Middle-east Journal Science Research**. v.7, n.6, p. 1056-1060,2011.

ALBUQUERQUE, R.B.; SOUZA, E.L.; STAMFORD, T.L.; STAMFORD, T.C. Perspectiva e potencial aplicação de quitosana como inibidor de *Listeria Monocytogenes* em produtos carnosos, **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v.10, n. 4, p. 264-270, 2009.

ALTIOK, D. ALTIOK, E.; TILHMINHIOGLU,F. Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing application **Journal Material Scientific: Science in Medicine**, v. 21, p 2227-2236, 2010.

ARAÚJO, Y.L.M.; SOUZA, C.O.; DRUZIAN, J.E; PADILHA.F.F.; ORELHA.S.C.; Uso de biofilme de amido a base de própolis vermelho para conservação de folhas de alface. **Scientia Plena**, v. 8, n. 12, p. 1-12, 2012.

ASSIS, A.S.; STAMFORD, T.C.; STAMFORD, T.L.M. Bioconversão de resíduos de camarão *Litopenaeus vannamei* (Boone,1931) para produção de biofilme de quitosana. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v.9, n. 5, p. 480-499, 2008.

AZEREDO, H. M. C; FARIA, J. A. F; AZEREDO, A. M. C; Embalagens ativas para alimentos. **Ciênc. e Tecnologia de Alimentos.**, v. 20, n.3, p. 337-341, 2000.

BOTRE, G.S.; SOARES, N.F.F.; CAMILLOTO,G.P.; FERNANDES, R.V.B.; Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pêra williams minimamente processada. **Ciência Rural**, v. 40,n.8, p. 1814-1820, 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC no 12 de 02 de Janeiro de 2001.http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm em 26/01/2010.

CHEN, C.; P.; WANG, B.; J. WENG., Y.; M. Physicochemical and antimicrobial properties of edible aloe/gelatin composite films. **Journal Food Science & Technology**.v.45, p.1050-1055, 2010.

CIACCO, C.F.; Cruz R. Fabricação de amido e sua utilização. São Paulo: Secretaria da Indústria,Comércio, **Ciência e Tecnologia**. v.7, 152p. (Serie Tecnologia Industrial,), 1982.

DAGUER,H.; SILVA, H.D.; HIGASHIYAMA, E.T.; ZANETE, C.M.; BERSOT, L.S. Qualidade de produtos cárneos fabricados sobre inspeção federal no estado do Paraná. **Ciência Animal Brasileira**. v. 12, n. 2. P. 359-364, 2011.

FAI, A.E.C.; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD,T.M. Potencial Biotecnológico de quitosana em sistemas de conserva de alimentos. **Revista Iberoamericana de Polímeros.**, v.9, n.5,p. 435-451 (2008).

FELLOWS, P.J “Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas”. 2^a edición. Porto Alegre (Brasil): Artmed; 2006, pag. 19-222) Barreteau H, Delattre C, Michud P, **Food Technology and Biotechnology**, v.44,n.3, p. 323 2006.

GODOY, L.C.; FRANCO,M.L.R.; FRANCO,N.P.; SILVA, A.F.; ASSIS M.F.; SOUZA, N.E.; MATSUSHITA,M. VISANTAINER,J.V. Análise sensorial de caldos e canjas elaborados com farinha de carcaça de peixe: aplicação na merenda escolar. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 3, supl.1, p.86-89, 2010.

GONÇALVES, A. A.; PENTRICE-HERNANDÉZ, C. Defumação líquida de anchova (*Pomatomus saltatrix*): Efeitos do processamento nas propriedades químicas e microbiológicas. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18 n. 4 , 1998.

JAY, J. **Microbiologia de Alimentos**. Editora Artmed, 6^a edição, Porto Alegre, 2005. 711 p.

LIMAN, Z.; SELMI, S. S.; SADOK, S.; ABED, A. Extraction and characterization of chitin and chitosan from crustacean by-products: Biological and physicochemical properties. **African Journal of Biotechnology**, v.10, n.4, p. 640-647, 2011.

MARTINS, L.L.; SANTOS,R.M.; OLIVEIRA,L.A. BEZZ,J. Avaliação do perfil bacteriológico de salsichas tipo "hot dog" comercializadas em embalagens a vácuo e a granel em supermercados dos municípios do Rio de Janeiro e Niterói RJ/Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.3, p 215-220, 2008.

MIRANDA, M.E.S.; MARCOLA,C.; RODRIGUES, C.A.; WILHEM,H.M.; SIERAKOWSKI,M.R.; BRESOLIN, T.M.B.; FREITAS,R.A. Chitosan and carboxymethylchitosan in: The role of carboxymethylthylation of chitosan in the thermal and dynamic mechanical properties of films. **Polymer International**, v.55, p. 961-969, 2006.

MORAES, A. R. F.; VIDIGAL, M. C. T. R. ; SOARES, N. F. F. ; MORAES, C.P. ; MELO, N. R. ; GONÇALVES, M. P. J. Desenvolvimento e avaliação de Filme antimicrobiano aromatizado para aplicação em massa de pastel. **Ciência Rural**, v. 41, n. 3, p. 537-543, 2011

PAULINO, F. O. P.; SILVA, T. J. P.; MARSICO, E. T.; CANTO, A. C. V. C. S.; VIEIRA, J. P. ; PEREIRA, A. P. A. A. S. Processamento e característica de qualidade de hambúrguer de carne de jacaré-do- pantanal (*Cariman crocodillus yacare*). **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 18, n. 2/3, p. 129-132, 2011.

SACHINDRA, N. M.; SAKHARE,P. Z. ; YASHODA, K. P.; RAO, N. Microbiological Profile of buffalo sausage during processing and storage. **Food Control**, v.26, p. 31-35, 2005.

SOARES, N. F. F. ; SILVA, W. A.; PIRES, A. C. S. ; CAMILLOTO, G. P. ; SILVA, P. S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**, v. 56, n.4, p. 370-378, 2009.

SYNOWIECKI, J.; AL-KHATEEB, N. A. Q. Mycelia of *Mucor rouxii* as a source of chitin and chitosan. **Food Chemistry**, v.60, n.4, p.605-610, 2003.

VILLADIEGO, A.M.D.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J. PUSCHMANN, R.; MININ,V. P. R.; CRUZ, R. Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios, **Revista Ceres**, v.52, n. 300, 2005.

9.2 ARTIGO 3

*Escrito segundo normas da revista: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Avaliação sensorial de salsichas cobertas com biofilmes de quitosana acrescidos de aromatizantes (Fumaça líquida).

RESUMO

O trabalho teve como objetivo avaliar as propriedades sensoriais de salsichas embaladas com três tipos de filme biodegradável de quitosana extraídos do exoesqueleto do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, diferenciadas pela adição de fumaça líquida nas concentrações de 5%, 7% e 10%. Uma escala hedônica de nove pontos foi empregada para análise de diferença de controle e os testes de aceitação foram analisados pela metodologia de Mapa de Preferência Interno (MEDPRF). Os resultados indicaram que houve diferença significativa entre o controle, filme convencional de polietileno e os filmes biodegradável de quitosana acrescidos de fumaça. Pelo Mapa de Preferência observou-se que as salsichas recobertas com filme contendo fumaça líquida nas concentrações de 5% e 7%, não diferenças estatísticas obteve para os atributos: Aparência, Aroma, Sabor, Textura e Aceitação global na adição teores de adição de fumaça, quando comparados com a amostra controle e 10% de fumaça.

PALAVRAS-CHAVE: Análise multivariada, Embalagem biodegradável, Resíduo exoesqueleto camarão marinho *Litopenaeus vannamei*.

ABSTRACT

The article was to evaluate the sensory properties of sausages packed with three kinds of biodegradable film from chitosan extracted from the exoskeleton of marine shrimp *Litopenaeus vannamei* , differentiated by the addition of liquid smoke in concentrations of 5 % , 7 % and 10 % . A nine-point hedonic scale was used to analyze the difference of control and acceptance testing were assessed using internal preference mapping (MEDPRF) . The results indicated a significant difference between the control , conventional polyethylene film and biodegradable chitosan film plus smoke. By Preference Mapping revealed that the coated film containing sausages with liquid smoke in concentrations of 5 % and 7 % , no differences Statistics obtained for the attributes : Appearance , Aroma , Taste , texture and overall acceptance levels in the addition of adding smoke compared to the control sample and 10 % " smoke .

KEY-WORDS: Multivariate analysis, Biodegradable Packaging, Waste exoskeleton marine shrimp *Litopenaeus vannamei*.

1 INTRODUÇÃO

Na atualidade a produção brasileira de camarão marinho está voltada principalmente para o mercado interno, que prefere o produto descabeçado e descascado. A preferência dos consumidores pelo filé de camarão produz uma quantidade relevante de resíduos do processamento, gerando graves problemas ambientais (FOGAÇA, 2009), promovendo uma das principais preocupações da indústria de alimentos que é encontrar formas de aproveitamento dos resíduos gerados, que sejam revertidos em benefícios financeiros para a indústria e que possam minimizar o impacto ambiental ou até mesmo evita-lo (FELTS *et al.*, 2010).

Na busca de tecnologias que possam utilizar os resíduos agroindustriais, o emprego de polímeros naturais na formação de embalagens flexíveis tem sido alvo de constantes pesquisas, com o objetivo da substituição parcial dos polímeros sintéticos empregados para embalagem dos alimentos, como por exemplo o uso de poliestireno, por embalagens que tenham um cunho biodegradável. Portanto, as tentativas de lidar com o lixo gerado fez surgir o interesse pela caracterização de filmes biodegradáveis à base de macromoléculas naturais de fontes como proteínas de soro de leite, gelatina, amido de mandioca, proteína de soja, pectina e quitosana (MARCIEL; FRANCO; YOSHIDA, 2012). Dentre os compostos pesquisados para elaboração de filmes biodegradáveis, os polissacarídeos têm sido avaliados como uma alternativa consideravelmente econômica e eficiente para este fim, com a quitosana como o sacarídeo mais pesquisado, e utilizada com sucesso em uma grande gama de aplicações nas áreas da indústria química, farmacêutica e de alimentos, em virtude deste polímero poder formar facilmente filmes e membranas, podendo ser utilizada como envoltório protetor de alimentos (ASSIS, 2008).

Nos últimos anos a pesquisa por embalagens que sejam além de biodegradáveis, detentoras de outras funções benéficas aos alimentos, tem sido ampliada, com a perspectiva de interação com o produto acondicionado e proporcionando melhorias nas suas características sensoriais (SANTANA *et. al*, 2013). Filmes ativos com função aromatizante tem sido pesquisados propostos, principalmente por que além da ação protetora aos alimentos, eles também tem ação conservante, sendo capazes de reduzir, inibir ou retardar o crescimento da microbiota contaminante, principalmente na superfície do alimento embalado, onde a maior parte das reações de deterioração ocorre,

podem adicionar características aromáticas ao alimento. Daí o aroma aparece como uma propriedade sensorial importante bem como torna-se um dos principais critérios de aceitação pelo consumidor (MORAES et. al.,2011).

Dante do exposto, o sucesso do alimento no mercado depende do seu desempenho mediante a aceitação do consumidor aos alimentos produzidos podendo a embalagem atuar como uma ferramenta neste processo sendo ela ativa e aromatizada. Assim o objetivo da presente pesquisa foi desenvolver uma embalagem biodegradável a partir da quitosana extraída da carapaça de camarões marinhos acrescida de fumaça líquida e verificar a aceitação de salsichas cobertas com essa embalagem pelos consumidores estudados.

2 MÉTODOS

2.1 Elaboração dos biofilmes de quitosana acrescido de fumaça líquida

A quitosana utilizada na produção dos filmes foi obtida no processo de desacetilação da quitina extraída das carapaças do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, seguindo respectivamente as etapas: a) desmineralização, b) desproteinização c) desodorização d) transformação da quitina em quitosana conforme o procedimento descrito por Assis e Britto (2008), e seca em temperatura ambiente. A solução filmogênica para elaboração do biofilme de quitosana foi preparada por dissolução e homogeneização de 2g de quitosana e homogeneizada com 100 mL de ácido acético a 1% e ácido cítrico a 1%, formando uma solução de 20 mg/mL. A solução foi submetida à agitação por 24 horas para obter o gel de quitosana, seguindo a metodologia descrita por Assis (2009) para então ser adicionada de fumaça líquida a 5%, 7% e 10%, permanecendo por mais uma hora de agitação, sendo representadas respectivamente como formulação, 2, 3 e 4 e tendo como formulação 1 a amostra controle com embalagem tradicional (filme polietileno). Posteriormente, a solução foi adicionada em formas de teflon com medidas externas de 20 x 31 x 4 cm e medidas internas de 18 x 27 x 3,5 cm, colocados em estufa a aproximadamente 35 °C, para obtenção dos filmes a serem utilizados na cobertura de salsichas de acordo com a técnica de *casting* descrita em Gonçalves e Prentice-Hernandez (1998). Foram testados filmes de quitosana com e sem adição de plastificante.

2.2 Preparo das amostras

Os produtos utilizados para serem acondicionadas pela embalagem de quitosana acrescida de fumaça foram comprados a granel em comércio local no município de João Pessoa, Paraíba, Brasil, e embaladas com biofilme de quitosana por cinco dias a temperatura de refrigeração de 7 °C, para serem ofertadas aos consumidores após passarem por análise microbiológica segundo a RDC nº12 de Janeiro de 2001 para garantia da segurança higiênico-sanitária. Quanto ao teor químico as amostras foram avaliadas os teores de proteína, carboidratos, lipídeos e resíduo mineral fixo, seguindo a metodologia preconizada pelo Instituto Adolfo Lutz (SÃO PAULO, 2008), para então serem analisadas sensorialmente quanto os efeitos do biofilme nas salsichas.

2.3 Avaliações sensorial

A avaliação sensorial da aceitabilidade das amostras cobertas com o biofilme de quitosana foi realizada por 96 consumidores. Os consumidores avaliaram a aceitação global das salsichas cobertas com embalagem de quitosana nas concentrações testadas de 5%, 7% e 10%, utilizando a escala hedônica de nove pontos. O teste foi realizado no Laboratório de Analise Sensorial do Centro de Tecnologia da UFPB, onde as amostras foram avaliadas, na mesma seção por cada consumidor. As amostras foram servidas de forma monádica, em copos descartáveis de 50 mL, codificadas com números aleatórios de três dígitos. Com a finalidade de analisar os níveis de aceitação e intenção de compra quanto às salsichas cobertas por biofilme aromatizado com fumaça liquida.

2.4 Análises estatísticas

Os dados referentes à aceitação das quatro formulações da embalagem de quitosana foram primeiramente submetidos a uma análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade, em relação às médias obtidas para as notas quanto do efeito da adição de fumaça liquida e análises de intenção de compra. Foram realizados também testes de diferença do controle, para as salsichas embaladas em biofilme sem adição de fumaça (amostra-controle) e as salsichas embaladas nos filmes nas concentrações de 5%, 7% e 10% quanto ao teste de médias de Dunnett (CAVALCANTE; MORAIS; RODRIGUES 2009). Para obtenção do Mapa de Preferência Interno ou Análise de Preferencia Multidimensional (MDPREF), os dados

de aceitação (teste do consumidor) foram organizados em matriz em linhas e consumidores (em colunas), e esta submetida a analise de componentes principais (ACP), (SALES et. al., 2008). Utilizando o programa Grafpad Prisma versão prisma seis.

3 Resultados e discussão

3.1 Análises microbiológicas e composição centesimal das salsichas tipo hot dog

As amostras de salsicha cobertas com biofilme de quitosana acrescido de fumaça foram analisadas segundo os métodos do Instituto Adolf Lutz (SÃO PAULO, 2008), apresentando teores de proteínas, lipídeos, carboidratos e resíduo mineral fixo, antes do acondicionamento e depois do acondicionamento respectivamente de: **12,33% e 12,75%; 20,93% e 20,38%; 2,66% e 2,53%; 0,97 % a 0,92%**. Estando estes dados de acordo com a Instrução normativa nº 4 de 31 de Março de 2000, que estabelece os valores para composição nutricional para salsichas. Todas as salsichas também estiveram adequadas, quanto as análises de determinações de contagem total de Coliformes a 45 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutor e *Salmonella* sp., seguindo a metodologia da APHA (2001) utilizando-se como padrão para a qualidade higiênico-sanitária a Resolução da ANVISA nº 12 de janeiro de 2001.

3.2 Aceitabilidade sensorial

3.2.2 Testes de aceitação utilizando escala hedônica

As médias obtidas para cada tratamento estão apresentadas na **Tabela 1**. Observa-se que as maiores médias dos provadores foram para as salsichas cobertas com biofilme de quitosana a 5% e 7%, que diferiu estatisticamente das amostras controle, apenas quanto aos atributos de aparência, sabor e aceitação global, pode-se verificar esses dados ao visualizar a frequência acumulada por grau de satisfação dos provadores em relação às amostras cobertas com biofilme em relação às faixas de aceitação, neutralidade e rejeição em relação aos atributos testados. Com percentuais entre 40 e 89.1% para o índice de aceitação com notas entre 6 e 9, que vão do gostei ligeiramente ao gostei extremamente, bem como podemos inferir que o filme de quitosana com 10% de fumaça líquida obteve o maior índice de rejeição com notas situada entre 1 e 4 na escala hedônica sendo respectivamente as notas para desgostei extremamente a

desgostei ligeiramente, ressaltando a melhor aceitação das outras formulações testadas (**Tabela 2**).

Tabela 1. Médiana por atributo para diferentes amostras de salsichas cobertas com biofilme de quitosana acrescido de fumaça líquida

Atributos	Controle		Biofilme 5%		Biofilme 7%		Biofilme 10%		P valor
	Median a	Min./Máx	Median a	Min./Máx	Median a	Min./Máx	Median a	Min./Máx	
Aparência	7 ^a	2-9	8 ^b	1-9	8 ^{ab}	1-9	7 ^a	1-9	P=0,0001
Aroma	7 ^a	1-9	7 ^a	2-9	8 ^a	1-9	7 ^a	1-9	P=0,1351
Sabor	7 ^a	1-9	8 ^a	2-9	8 ^a	1-9	7 ^a	1-9	P=0,1159
Textura	8 ^a	2-9	8 ^a	2-9	8 ^a	1-9	7 ^a	1-9	P=0,3910
Aceitação global	7 ^a	1-9	8 ^a	1-9	8 ^a	1-9	7 ^a	1-9	P=0,0593

As médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Krull-Wallis

Tabela 2: Frequência percentual acumulada por atributo do grau de satisfação dos provadores em relação às amostras de salsicha cobertas com biofilme

Atributos	Aceitação (6-9)				Indiferença (5)				Rejeição (1-4)			
	C	5%	7%	10%	C	5%	7%	10%	C	5%	7%	10%
Aparência	77,0	89,5	70	15	10,4	3,12	20	70	12,5	7,3	10	15
Aroma	64,5	40	70	15	12,5	15	20	70	22,9	45	10	15
Sabor	75	40	70	15	5,21	40	20	70	5,21	20	20	70
Textura	79,1	40	70	15	7,29	40	20	70	13,5	20	10	15
Aceitação Global	72,6	40	70	15	8,4	40	20	70	18,5	20	10	15

3.2.2 Teste de diferença de controle

O teste de diferença de controle foi aplicado para verificar se as amostras de salsichas cobertas com o biofilme de quitosana acrescidos de fumaça diferiram significativamente entre si e das amostras-controle (biofilme sem fumaça) em termos globais. Os resultados, avaliados por de análise de variância e teste de médias de Dunett para o atributo aceitação global foram realizados segundo Cavalcante, (2009), demonstrando que todas as embalagens foram estatisticamente diferentes em relação à amostra controle (biofilme sem fumaça). Camel et al. (2012), pesquisando a influência de extrato de erva-mate como agente antioxidante em frangos assados e reaquecidos não encontraram diferença estatística entre o controle sem condimento e com adição de condimentos nas amostras analisadas. Já Cirolini (2010) pesquisou a adição de culturas iniciadora nativa na elaboração salame tipo Italiano, encontrando diferenças significativas para os atributos, cor, sabor e odor entre o controle com culturas

iniciadoras comerciais e adição culturas isoladas. Esta pesquisa também encontrou diferenças avaliando a amostra-controle (sem adição de fumaça) e diferentes concentrações de fumaça líquida, demonstrando que a adição de fumaça líquida a embalagem biodegradável de quitosana modifica a percepção dos consumidores quanto à aceitação global de salsichas embaladas com biofilme adicionado de fumaça independente de qual seja a concentração empregada (**Tabela 3**).

Tabela 3. Teste de diferença de controle das amostras de salsichas cobertas com biofilme de quitosana acrescido de fumaça líquida

Médias Gerais				
Controle	5%	7%	10%	
Controle vs 5% 2.917 ^j ±0.28	6,44 ^a 7,26 ^a 6,88 ^a			
Controle vs 7% 3.427 ^m ±0.33				
Controle vs 10% 3.590 ⁱ ±0.35				

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($p \leq 0.05$)

3.2.3 Mapa de preferência para salsichas cobertas com biofilme de quitosana acrescida de fumaça

Com os dados obtidos no teste de aceitação das três formulações testadas e o controle sem adição de fumaça para as embalagens de quitosana, foram realizadas as análises do Mapa de Preferência Interno (MDPREF) (**figuras: 1**). Segundo Sales et. al. (2008), os métodos tradicionais de análise de testes de aceitação possuem algumas limitações, por que ao empregar esses testes são usados análise de variância e testes de comparação de média, onde se assume que todos os consumidores possuem o mesmo comportamento, com isso se torna importante empregar um método que analise individualizando cada consumidor e para isto devemos empregar a análise de (MDPREF). O Mapa de Preferência Interno foi realizado para os atributos aparência, aroma, sabor e textura para avaliar salsichas cobertas com biofilme de quitosana no controle (sem adição de fumaça) e biofilme com 5, 7 e 10%, por meio de análise do primeiro componente principal e segundo para cada um dos atributos testados.

Para o atributo aparência (Figura 1-A) os dados obtidos pelos dois primeiros componentes principais explicam 79,3% da variação de dados, sendo que o componente principal 1 (PC1) explicando 45,14% e o componente 2 (PC2) 34,18% dos dados. Na avaliação deste atributo foram encontrados três grupos distintos, com as formulações de 5 e 7% não apresentando pelos consumidores uma diferenciação quanto a adição de fumaça líquida nas embalagens que viam a faze-los discernir entre uma formulação e outra, quanto comparadas com a embalagem acrescida de 10% de fumaça

líquida e o grupo controle sem adição de fumaça, para as embalagem que recobriram as salsichas.

Para o atributo aroma (Figura 1-B) pode-se constatar a separação de três grupos distintos, para as quatro formulações de biofilmes de quitosana testados, sugerindo a existência de diferenciação na aceitação entre as salsichas recobertas com os biofilmes, havendo uma ligeira separação para as formulações 2 e 3, podendo fazermos dizer que os consumidores encontraram-se dispersos nos quatro quadrantes, ocorrendo aceitação e diferença estatística para as quatro formulações com fumaça adicionadas aos biofilmes de quitosana.

A Figura 1C representa o mapa de preferência para o atributo sabor, com o PC1 explicando 47,75% e o PC2 33,5% da variação dos dados entre as quatro adições de fumaça para os biofilmes testados para recobrimento. Para este atributo foi observada a separação espacial entre as quatro formulações, com as formulações 1 e 4 sugerindo a existência de diferenciação na aceitação das salsichas cobertas com biofilme de quitosana, já para as formulações 2 e 3 por estarem posicionadas nas regiões centrais do gráfico, não apresentaram correlações estatísticas significativas, logo podemos inferir que os consumidores não diferenciaram as amostras em relação ao atributo testado.

Realizando uma análise global do Mapa de Preferência individual obtido pelos dados de aceitação, nota-se que as formulações de 5 e 7% foram preferidas pelos consumidores, mesmo quando estatisticamente não foi comprovada a separação destas. Pelos resultados apresentados tanto no MDPREF, quanto nas médias por atributo conclui-se que os consumidores optaram por estas formulações nas embalagens testadas para reaproveitamento de resíduos da Carcinicultura.

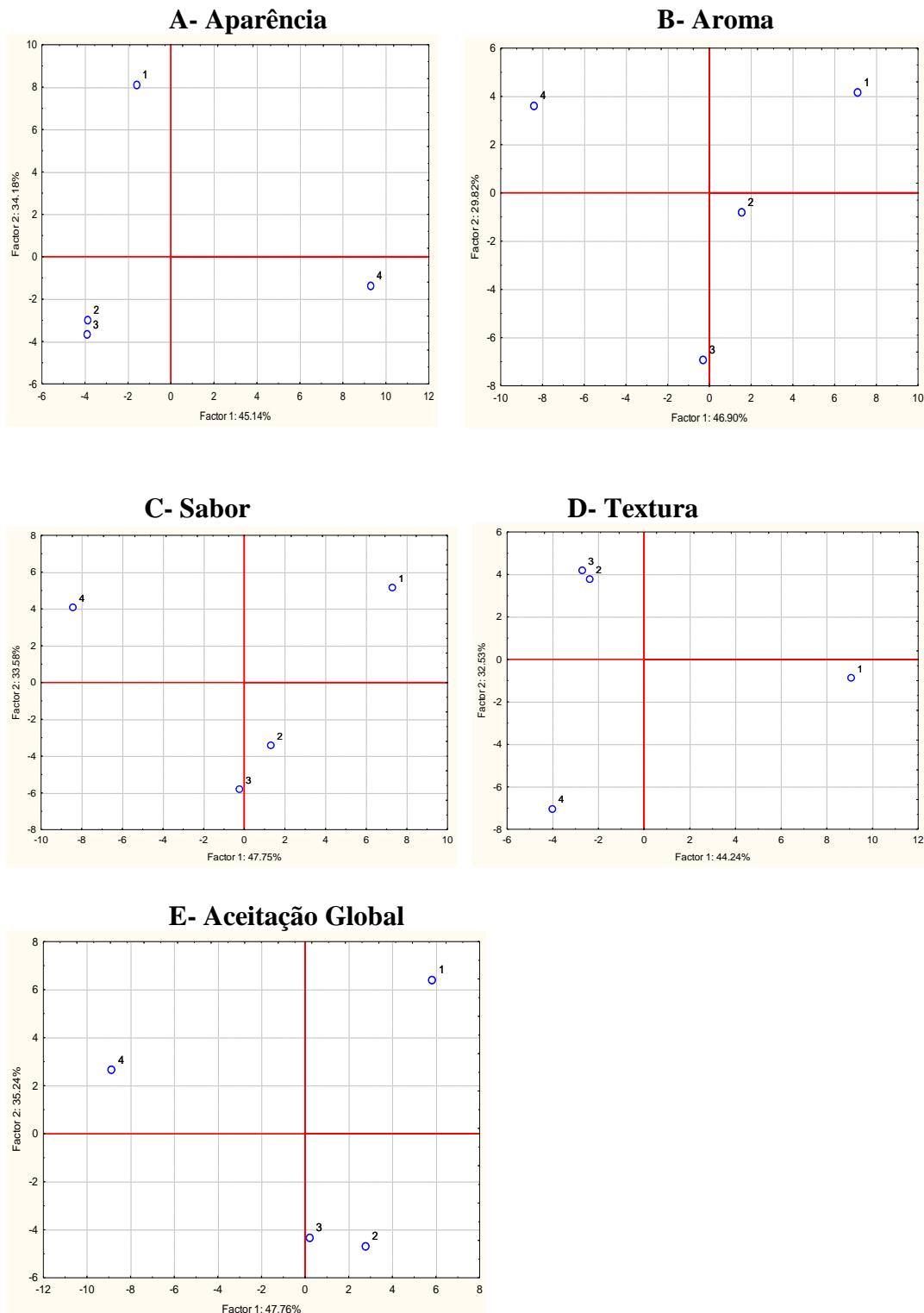


Figura 1: Dispersão das amostras de salsicha cobertas com biofilme de quitosana acrescido de fumaça líquida: (1) filmes controle sem fumaça; (2) com 5% de fumaça; (3) 7% de fumaça e (4) 10% de fumaça, em relação aos atributos sensoriais avaliados.

4- Conclusão

A adição de fumaça líquida em diferentes concentrações em biofilmes de quitosana para encobrimento de salsichas, apresentou-se como uma indicação para aproveitamento dos resíduos da carcinicultura quanto à utilização dos resíduos provenientes da filetagem do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, e mostrou que em relação à aceitação aos atributos sensoriais avaliados a confecção do biofilme de quitosana acrescido de fumaça torna-se adequada para industrialização, mesmo para aquelas formulações que não obtiveram ótimas notas na aceitação sensorial.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pelo apoio financeiro outorgado durante a realização deste trabalho.

5-Referencias Bibliográficas

- ASSIS, A. S.; STAMFORD, T. C.; STAMFORD, T. L. M. Bioconversão de resíduos de camarão *Litopenaeus vannamei* (Boone,1931) para produção de biofilme de quitosana. **Revista Iberoamericana de Polímeros.**, v.9, n. 5, p. 480-499, 2008.
- ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. Processo básico de extração de quitinas e produção de quitosana a partir de resíduos da carnicultura. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.14, n.1,p. 91-100, 2008.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC no 12 de 02 de Janeiro de 2001.http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm em 26/01/2010.
- CAMEL, M. B.; VALDUGA, M. G.; CICHOSKI, A. T.; TONIAZZO, A. J.; VALGUGO, G.; CAMSIAN, E.; OLIVEIRA, R. L. Influência do Potencial antioxidante de extrato de erva-mate (*Ilex paraguaiensis st hil*) em frango assado, armazenado e reaquecido. **Brazilian Journal of Food**, v. 23, n.2; p. 297-305, 2012.
- CAVALCANTE, J.M; MORAIS, A.S.; RODRIGUES, M. C. P. Efeito da adição de amêndoas de castanha de caju nas propriedades sensoriais do iogurte adoçado com mel. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.3, n. 1, p 1-14, 2009.
- CIROLINI, A.; FRIES, L. L. M. TERRA, N. N.; MILANI, L. I. E.; URNAU, D.; SANTOS, B. A.; CERVO, G. D.; REZER, A. P. S. Salame tipo italiano elaborado com cultura stater nativa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.30, supl. 1, p. 171-179, 2010.

FELTS, M. M.; SPILLER, V. R.; BEIRÃO, L. H.; BLOCK, J. M.; NINOW, J. L. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização do peixe. **Revista Brasileira Engenharia Ambiental**, v. 4, n. 6, p. 669-677, 2010.

FOGAÇA, F. H. S.; LEGAT, J. F. A. Ensilagem de resíduos do beneficiamento do camarão marinho. **I Simpósio Internacional sobre gerenciamento de resíduos de animais ordenamento territorial das produções animais e políticas públicas, relacionados ao gerenciamento dos resíduos de animais**, de 11 a 13 de Março de 2009. Florianópolis SC, Brasil, 2009.

GONÇALVES, A. A.; PENTRICE-HERNANDÉZ, C. Defumação líquida de anchova (*Pomatomus saltatrix*): Efeitos do processamento nas propriedades químicas e microbiológicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18 n. 4, 1998.

MACIEL, B.V.; FRANCO, T. T.; YOSHIDA, C. M. P. Sistema inteligente de embalagens utilizando filmes de quitosana como indicador colírimétrico de temperatura. **Polímero**, v.22, n. 4, p. 318-324, 2012.

MARTINS, L. L.; SANTOS, R. M.; OLIVEIRA, L. A.; BEZZ, J. Avaliação do perfil bacteriológico de salsichas tipo "hot dog" comercializadas em embalagens a vácuo e a granel em supermercados dos municípios do Rio de Janeiro e Niterói RJ/Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.3, p 215-220, 2008.

MORAES, A. R. ; VIDIGAL, M. C. T. R.; SOARES, N. F. F.; MORAES, C. P. ; MELO, N. R.; GONÇALVES, M. P. J. Desenvolvimento e avaliação de Filme antimicrobiano aromatizado para aplicação em massa de pastel. **Ciência Rural**, v. 41, n. 3, p. 537-543, 2011.

SALES, R. K.; VOLP, A. C .P.; BARBOSA, K. B. F.; DANTAS, M. I. S.; DUARTE, H. S.; MININ, V. P. R. Mapa de Preferência para sorvetes ricos em fibras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 28 supl. P. 27-31. 2008.

SANTANA, M. C. C. C.; MACHADO, B. A. S.; SILVA, T. N.; NUNES, I. L.; DRUZIAN, J. I. Incorporação de urucum como aditivo antioxidante em embalagens biodegradáveis a base de quitosana. **Ciência Rural**, v.43, n. 3, p. 544-550, 2013.

10 CONCLUSÃO GERAL

Os resultados desta pesquisa indicam o potencial para elaboração de filmes biodegradáveis produzidos a partir do polímero de quitosana extraídos do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* como forma de aproveitamento dos resíduos gerados durante as etapas de descasque e descabeçamento. Os testes de caracterização da quitosana e os experimentos quanto às propriedades mecânicas do filme atenderam a literatura.

Os filmes contendo quitosana e fumaça líquida com e sem plastificante apresentaram inibição de crescimento frente à um único micro-organismo *Escherichia coli*. Demonstrando que a utilização da quitosana pode ser potencializada como agente de segurança microbiológica para as embalagens biodegradáveis com e sem plastificante e carece de mais investigações. Portanto, os resultados encontrados apontam como preconiza a literatura o potencial antimicrobiano do uso de quitosana e que a adição de fumaça líquida pode ser empregada na elaboração de embalagens aromatizadas sem prejuízo ao produto elaborado, adicionando o mesmo de valor agregado.

A adição de fumaça líquida em diferentes concentrações em filmes biodegradáveis de quitosana para encobrimento de salsichas, apresentou-se como uma indicação para aproveitamento dos resíduos da carcinicultura, mostrando que em relação à aceitação aos atributos sensoriais avaliados a confecção do biofilme de quitosana acrescido de fumaça torna-se adequada para industrialização, mesmo para aquelas formulações que não obtiveram ótimas notas na aceitação sensorial.

ANEXOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a),

Esta Pesquisa é sobre Avaliação sensorial de salsichas cobertas com biofilme de quitosana acrescido de fumaça líquida e está sendo desenvolvida pela pesquisadora Michelle Rayssa Pereira de Melo aluna de doutorado do Curso de Pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Professor Dr João Andrade da Silva.

Os objetivos do estudo são desenvolver biofilmes de quitosana a partir de resíduos da carcinicultura adicionados de fumaça líquida, para aplicação em produtos cárneos (salsicha tipo hot dog), avaliados através da análise sensorial pelo teste de aceitação dos produtos embalados. A carcinicultura, ou seja, o cultivo de camarões marinhos vem ratificando avanços significativos no cenário nacional, e comercializa o produto principalmente descabeçado e descascado, o que gera um grande aumento na produção de resíduos desse beneficiamento na forma de cefalotórax, segmentos abdominais e carapaças, portanto, através do aproveitamento dos resíduos gerados, este trabalho tem como foco diminuir o impacto ambiental possa ser minimizado ou até evitado, bem como avaliar a aceitação dos provadores quanto a produção de embalagens aromatizadas e como estes produtos podem contribuir para elaboração de novas tecnologias dentro da indústria de alimentos.

Solicitamos a sua colaboração para responder a **uma Ficha de avaliação sensorial** com objetivo de avaliar: Aparência, Aroma, Sabor, Textura e Aceitação Global, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de nutrição e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos que essa pesquisa não oferece riscos, previsíveis, para sua saúde. Não havendo riscos ou desconfortos a sua saúde, salvo para aqueles alérgicos a produtos ricos em proteína ou aditivos químicos na forma de corantes

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o (a) senhor (a) não é obrigado (a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador (a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano.

O pesquisador estará a sua disposição para qualquer esclarecimento (a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador Responsável

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

Nome: _____
 Escolaridade: _____

**TESTE DE AVALIAÇÃO SENSORIAL DE SALSICHAS COBERTAS COM
 BIOFILME ACRESCIDO DE FUMAÇA LIQUIDA.**

Por favor, avalie a amostra de salsicha tipo hot dog de acordo com as características citadas, usando a escala abaixo, indicando o quanto você **gostou** ou **desgostou** das amostras:

Características			
Aparência			
Aroma			
Sabor			
Textura			
Aceitação global			

- (9) gostei extremamente
- (8) gostei muito
- (7) gostei moderadamente
- (6) gostei ligeiramente
- (5) nem gostei / nem desgostei
- (4) desgostei ligeiramente
- (3) desgostei moderadamente
- (2) desgostei muito
- (1) desgostei extremamente

Intenção de Compra

Amostras	Avaliação

- (5) Sempre compraria
- (4) Provavelmente compraria
- (3) Talvez comprasse/ Talvez não comprasse
- (2) Provavelmente não compraria
- (1) Nunca compraria