

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ALEX BENICIO DA SILVEIRA JUNIOR

**USO DO FILME COMESTÍVEL DE QUITOSANA EXTRAÍDA DE CAMARÃO  
(*Litopenaeus vannamei*) NA EXTENSÃO DO TEMPO DE PRATELEIRA DA CARNE  
OVINOS REFRIGERADA.**

Recife

2018

**ALEX BENICIO DA SILVEIRA JUNIOR**

**USO DO FILME COMESTÍVEL DE QUITOSANA EXTRAÍDA DE CAMARÃO  
(*Litopenaeus vannamei*) NA EXTENSÃO DO TEMPO DE PRATELEIRA DA CARNE  
OVINOS REFRIGERADA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em ciências Biológicas, Área de Concentração Biotecnologia, da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

**Área de concentração:** Biotecnologia

**Orientador:** Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra

**Coorientador:** Dr. Thiago Barbosa Cahú

**Coorientador:** Dr. Janilson Felix da Silva

Recife

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Silveira Junior, Alex Benício da

Uso do filme comestível de quitosana extraída de camarão (*Litopenaeus vannamei*) na extensão do tempo de prateleira da carne ovinos refrigerada/ Alex Benício da Silveira Júnior- 2018.

48 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Ranilson de Souza Bezerra

Coorientadores: Thiago Barbosa Cahú e Janilson Félix da Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Recife, 2018.

Inclui referências

1. Biofilme 2. Quitosana 3. Carne ovina I. Bezerra, Ranilson de Souza (orient.) II. Cahú, Thiago Barbosa (coorient.) III. Silva, Janilson Félix da (coorient.) IV. Título

641.49

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2018-383

Elaborado por Elaine C. Barroso CRB4/1728

ALEX BENICIO DA SILVEIRA JUNIOR

**USO DO FILME COMESTÍVEL DE QUITOSANA EXTRAÍDA DE CAMARÃO  
(*Litopenaeus vannamei*) NA EXTENSÃO DO TEMPO DE PRATELEIRA DA CARNE  
OVINOS REFRIGERADA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em ciências Biológicas, Área de Concentração Biotecnologia, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas

Aprovado em: 30/07/2018

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof.Dr. Ranilson de Souza Bezerra/Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr<sup>a</sup>. Andreia Cybelle Marques Ferreira/Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr<sup>a</sup>. Renata Cristina da Penha França/Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho inicialmente a meu pai Alex Benicio pelo qual é motivo de minha inspiração, a minha mãe Rosiane Maria pela grande dedicação a mim e a nossa família, aos meus irmãos João Marcelo e Nathalia Maria por sempre acreditarem no meu potencial, a minha querida Esposa Renata Alves, pois, sem ela seria impossível essa conquista, a minha amiga Maria Evelisy pelo grande apoio em momentos difíceis do dia-dia e aos meus familiares e amigos que tiveram sempre comigo nessa luta,

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu eterno professor orientador, pai e acima de tudo um grande amigo Alex Benicio, uma pessoa que sempre me espelhei, tornando-se para mim um incentivador da minha humilde, porém até aqui promissora carreira universitária e profissional.

Aos amigos de trabalho: Thiago, Janilson, Cybele, Elizabel e Leila pela ajuda oferecida as quais contribuíram bastante para a conclusão do meu trabalho.

À Adenilda (Adê) por exercer com competência seu trabalho e sempre disposta a nos ajudar.

Ao técnico Vivaldo do departamento de nutrição pelo grande apoio nas minhas análises microbiológicas.

Ao professor orientador Ranilson por acreditar no trabalho proposto.

A banca examinadora pelo grande acréscimo de conhecimento observado no trabalho exposto.

Aos meus amigos JunioFull, Natalia Lima, Manoel Rodrigo, Bruno Justino, Ziane, Kiko, Danilo, Bia, entre outros, que sempre me apoiaram nessa jornada árdua, mesmo sendo em momentos de descontração, que são importantes para um relaxamento de uma semana estressante e cansativa.

## RESUMO

Estudos sobre conservação de alimento visam minimizar perdas econômicas pelos efeitos das alterações na carne causadas por microrganismos deteriorantes. A refrigeração, o congelamento, os conservantes químicos. Entre outros métodos de conservação usados atualmente podem causar danos nos produtos cárneos e a saúde humana. Assim, as coberturas comestíveis com efeitos inertes vêm sendo desenvolvidas para aumentar o tempo de prateleira dos alimentos cárneos. O objetivo desse trabalho foi avaliar a ação do filme comestível de quitosana no coxão de carneiro conservado sob resfriamento a 4°C por 30 dias. Os exemplares de coxão foram obtidos de estabelecimentos comerciais no município de Gravatá (PE). Fragmentos de carne foram submetidos a três tratamentos, sendo um controle (C), onde a amostra foi refrigerada sem tratamento e dois tratados através de imersão em soluções de quitosana 1% (CQ) e ácido acético 1% (CA). A análise morfológica e histoquímica foram feitas através de técnicas rotineiras para microscopia de luz e coloração em Hematoxilina e Eosina (H.E) Picrosirius e ácido periódico de Schiff (PAS), as determinações físico-químicas de pH foram feita em pHmetro de bancada e a oxidação lipídica pela técnica de (TBARS). Todas as análises da carne foram feitas periodicamente em intervalos de 0, 10, 20 e 30 dias. Para as análises microbiológicas foi utilizada água peptonada 1% para triturar os fragmentos de carne em diluições de 1/10 e 1/100 ml. Alíquotas de 1 ml dessas diluições foram submetidas à técnica de "pour-plate" em placas de Petri contendo 15 ml do meio PCA e armazenados a 4°C por oito dias para bactérias psicotróficas a 37°C por 48h em estufa para bactérias mesófilas. O pH médio inicial do coxão de carneiro nos diferentes tratamentos foram 6,29 (C), 5,95 (CA) e 5,4 (CQ); ao final de 30 dias de armazenamento o (CQ) foi o que manteve a carne no menor pH (6,43) em relação aos demais grupos. A oxidação lipídica nos carnes foi menor nos carnes com filme de quitosana (0,003±), seguida do tratamento (CA) (0,006±) e C (0,008±) no final do experimento. As alterações morfológicas observadas por microscópio nas fibras musculares e tecido conjuntivo do grupo C em comparação com o grupo (C) e CA, foram degradadas. A contagem das colônias dos microrganismos mesófilos no décimo dia de conservação foi de  $1,2 \cdot 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup> (C),  $5,6 \cdot 10^3$  UFC.mL<sup>-1</sup> (CA) e  $2,0 \cdot 10^2$  UFC.mL<sup>-1</sup> (CQ), e a contagens das colônias no período de trinta dias foram de  $3,2 \cdot 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup> (C),  $8,5 \cdot 10^3$  UFC.mL<sup>-1</sup> (CA) e  $6,7 \cdot 10^1$  UFC.mL<sup>-1</sup> (CQ) já para os

psicrotróficos foi obtido no décimo dia,  $9,1 \cdot 10^3 \text{UFC.mL}^{-1}$  (C)  $6,8 \cdot 10^3 \text{UFC.mL}^{-1}$  (CA) e  $1,3 \cdot 10^{-2} \text{UFC.mL}^{-1}$  (CQ). Mediante esses dados foi observado à inibição do crescimento das bactérias presentes na carne do grupo (CQ) ao término dos trinta dias de armazenamento. O revestimento comestível de quitosana extraído de camarão marinho foi eficaz em prolongar a estabilidade química e microbiológica das amostras de carne de carneiro. Este tratamento pode representar um avanço para a indústria de carne uma vez que possibilita um alimento mais seguro do ponto de vista de contaminação além de estender o tempo de prateleira e permitiu uma melhor logística de comercialização.

**Palavras-chave:** Antimicrobiano. Eosina. Hematoxilina. Picrosirius. Revestimento. Comestível.

## ABSTRACT

Studies on food preservation aim to minimize economic losses due to the effects of alterations in meat caused by deteriorating microorganisms. Refrigeration, freezing, chemical and preservatives. Other conservation methods currently used may cause damage to meat products and human health. Thus, edible coverings with inert effects have been developed to increase the shelf life of meat foods. The objective of this work was to evaluate the action of the chitosan edible film in the ram's mantle preserved under cooling at 4°C for 30 days. outside specimens were obtained from commercial establishments in the municipality of Gravatá (PE). Meat samples were submitted to three treatments, one control (C), where the sample was refrigerated without treatment and two treated by immersion in 1% chitosan (CQ) and 1% acetic acid (CA) solutions. The morphological and histochemical analyzes were done using routine techniques for light microscopy and staining in Hematoxylin and Eosin (HE) Picrosirius and periodic Schiff's acid (PAS), the physico-chemical determinations of pH were done in pHmeter and oxidation (TBARS) technique. All meat analyzes were performed periodically at 0, 10, 20 and 30 day intervals. For the microbiological analyzes, 1% water was used to crush the meat fragments in dilutions of 1/10 and 1/100 ml. Aliquots of 1 ml of these dilutions were submitted to the pour-plate technique in Petri dishes containing 15 ml of the PCA medium and stored at 4 ° C for eight days for psychrotrophic bacteria at 37 ° C for 48 hours in a greenhouse for mesophilic bacteria. The initial mean pH of ram herd in the different treatments were 6.29 (C), 5.95 (CA) and 54 (CQ); at the end of 30 days of storage (QC) it was the meat that kept the lowest pH (6.43) in relation to the other groups. The lipid oxidation in the meats was lower in the meats with chitosan film (0.003 ±), followed by the treatment (CA) (0.006 ±) and C (0.008 ±) at the end of the experiment. Morphological changes observed in the muscle fibers and connective tissue of group C compared to group (C) and CA were degraded. The count of colonies of mesophilic microorganisms on the tenth day of storage was  $1,2 \cdot 10^4$  UFC.mL<sup>1</sup> (C),  $5,6 \cdot 10^3$  UFC.mL<sup>1</sup> (CA) and  $2,0 \cdot 10^2$  UFC.mL<sup>1</sup> (CQ), and the colonies counts in the the time period of thirty days were  $3,2 \cdot 10^4$  UFC.mL<sup>1</sup> (C),  $8,5 \cdot 10^3$  UFC.mL<sup>1</sup> (CA) and  $6,7 \cdot 10^1$  UFC.mL<sup>1</sup> (CQ) for the psychrotrophs was obtained on the tenth day,  $9,1 \cdot 10^3$  UFC. mL<sup>1</sup>, (C)  $6,8 \cdot 10^3$  UFC.mL<sup>1</sup> (CA) and  $1,3 \cdot 10^{-2}$ .UFC.mL<sup>-1</sup> (CQ). These data were observed to inhibit the growth of bacteria present in the meat of the (CQ) group at the end of the 30 days of storage.

The edible coating of chitosan extracted from sea prawn was effective in prolonging the chemical and microbiological stability of the mutton samples. This treatment can represent a breakthrough for the meat industry as it enables a more safe food from the point of view of contamination besides extending shelf life and allowing better marketing logistics.

**Key words:** Antimicrobial. Eosin. Hematoxylin. Picrosirius. Edible coating.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 01</b> - Cortes de carneiro realizado em Porto Alegre .....	19
<b>Figura 02</b> - Cortes transversais do músculo de carneiros corados em H.E. 200X .....	20
<b>Figura 03</b> - Involução das exportações (2003 a 2015) de camarão marinho cultivado do Brasil .....	22

### APÊNDICE A - ARTIGO CIENTIFICO

<b>Figura 01</b> - Foto micrografias do músculo estriado esquelético em corte longitudinal das amostras H.E. (aumento de 10x100 vezes) .....	38
<b>Figura 02</b> - Fotomicrografias do músculo estriado esquelético em corte transversal, picosírius (aumento de 4x100 vezes) .....	39
<b>Figura 03</b> - Fotomicrografias do músculo estriado esquelético em corte transversal, PAS (aumento de 40x100) .....	40
<b>Figura 04</b> - Fotomicrografias do músculo estriado esquelético em corte transversais e longitudinais H.E. (aumento de 40x100).....	41
<b>Figura 05</b> - Valores de pH da carne de carneiro durante o armazenamento sob refrigeração a 4°C .....	42
<b>Figura 06</b> - Efeitos da cobertura de quitosana na reação de TBARS em carne de carneiro armazenada a 4°C .....	43
<b>Figura 07</b> - Efeitos da cobertura de quitosana sob bactérias psicrótrófico em carne de carneiro armazenada a 4°C .....	44
<b>Figura 08</b> - Efeitos da cobertura de quitosana sob bactérias mesófilas (37 °C) em carne de carneiro armazenada a 4°C .....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CA	Com ácido
CQ	Com quitosana
C	Controle
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa-
PAS	Ácido Periódico De Schiff
PCA	Plate countagar
PVC	<b><i>Polyvinylchloride</i></b> /policloreto de vinil
TBARS	Reação Pelo Ácido Tiobarbitúrico
TEP	Tetraetoxipropano
UV	Ultra Violeta
H.E.	Hematoxilina e Eosina
UFC	Unidade Formadora de colônias
SO <sub>2</sub>	Dióxido de Enxofre
O <sub>2</sub>	Oxigênio

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>1.1 OBJETIVOS</b> .....	15
1.1.1 Objetivo Geral .....	15
1.1.2 Objetivos Específicos .....	15
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	16
2.1 PERFIL DA OVINO CULTURA NACIONAL .....	16
2.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DA CARNE .	17
2.3 MORFOLOGIA E HISTOQUÍMICA DO MÚSCULO DE OVINOS .....	19
2.4 CONSERVANTES QUÍMICOS .....	21
2.5 PROPRIEDADES E APLICAÇÕES DA QUITOSANA DE CAMARÃO. ....	21
<b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	24
<b>REFERENCIAS</b> .....	25
<b>APÊNDICE A - ARTIGO CIENTÍFICO</b> .....	29
<b>RESUMO</b> .....	31
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	32
<b>PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS</b> .....	34
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38
<b>CONCLUSÃO</b> .....	46
<b>REFERENCIAS</b> .....	47

## 1 INTRODUÇÃO

A proteína de fonte animal, em especial a carne, é considerada um dos alimentos mais importantes para a saúde humana, sendo utilizada em diversas refeições e em diferentes níveis sociais. Sendo assim, faz-se necessária uma fiscalização sanitária rigorosa tanto nos estabelecimentos de produção quanto nos produtos cárneos, exigindo padrões na obtenção de produtos nas prateleiras tendo em vista as técnicas apropriadas de controle dos efeitos *post mortem* e microbiológico sem que haja prejuízo na qualidade e atratividade dos produtos cárneos de origem ovina (EMBRAPA, 2017).

O Nordeste brasileiro é o maior produtor de carne ovina do Brasil e o segundo maior produtor da América Latina ficando atrás apenas do Peru. Os maiores produtores mundiais a Nova Zelândia e Austrália, porém não estão suprindo as necessidades mundiais dessas carnes (RAMOS; 2016). Nos últimos anos foi observado que em grandes centros urbanos mediante a mudança nos hábitos alimentares da população por fonte protéica com baixa quantidade de gordura, se modificou significativamente o mercado, abrindo espaço para o comércio de carne de ovinos, apresentando produto com baixo teor de gordura em comparação a outras fontes de proteína animais tendo uma melhor aceitação pela população (HE et.al. 2016).

Os atuais comerciantes e consumidores estão se tornando cada vez mais exigentes na avaliação das carnes e seus derivados como também estão à procura de produtos que possuam aspecto fresco, de melhor qualidade e com menos conservantes químicos. Essa mudança de comportamento vem sendo observada por especialistas de diversas áreas alimentícias incentivando produtores e processadores de alimentos a buscarem técnicas de manuseio e conservação mais atuais e seguras como as coberturas comestíveis de fontes naturais como a quitosana, assim o mercado nacional mais competitivo a nível internacional (RAMOS, 2016). Com isso, visto que a carne é mais susceptível a contaminação foi desenvolvida coberturas comestíveis e aplicados antes de serem embalados em bandejas e papel filme (PVC), pelo frigorífico, permitiria que a carne, depois de embalada, só fosse manipulada no momento do consumo, garantindo um produto mais seguro (HU et.al. 2015). As contaminações em diferentes estágios do processamento das carnes podem ser observadas diversas transformações

bioquímicas e estruturais no tecido muscular nas primeiras 24 horas após a sangria (FENG, et al., 2017).

A alteração pela diminuição do pH, a autólise das fibras musculares, a desnaturação natural das cadeias proteínicas, degradação da gordura presentes no músculo e da temperatura durante o processo de *rigor mortis* dos cortes, influenciam diretamente na qualidade do produto cárneo. O tempo de atuação do *rigor mortis* é controlado principalmente, pela reserva de glicoproteína presentes nos músculos (FANG, et al., 2018).

A quitosana é um polissacarídeo obtido a partir da hidrólise alcalina do grupo N-acetil da quitina, principal componente das conchas e exoesqueletos de crustáceos. É um biopolímero degradável com características interessantes para aplicação de revestimento comestível com o intuito de melhorar a vida útil da carne de carneiro. A eficiência da cobertura pode ser determinada pela manutenção das características histológicas, físico-química e microbiológica, e ainda como inibidora da oxidação lipídica (CAHÚ et al., 2012).

O uso de revestimentos comestíveis pode ter um efeito benéfico na preservação dos produtos cárneos, pois funcionam como uma barreira contra a penetração de umidade e oxigênio (PEREIRA et.al. 2012). A quitosana é um biopolímero conhecido, formador de biofilmes com fortes atividades antimicrobianas e antifúngicas, que tem sido aplicado à preservação de produtos alimentícios (LI et.al. 2013;).

Devido ao exposto o objetivo desta pesquisa foi avaliar a eficiência do revestimento comestível de quitosana através de análises histológicas, físico-químicas e microbiológicas para estender a vida útil da carne de carneiro.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o uso da quitosana na extensão da vida útil da carne de carneiro refrigerada.

### 1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir quitosana da carapaça de camarão para preparação de soluções formadoras de filme comestíveis.
- Identificar as alterações morfológicas e histoquímicas das fibras musculares após trinta dias.
- Realizar análise microbiológico.
- Determinar as alterações do pH da carne de ovino revestida com filme de quitosana e ácido.
- Realizar análises de oxidação lipídica na carne refrigerada.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 PERFIL DA OVINOCULTURA NACIONAL

Para atingir um potencial econômico a tal ponto de concorrer no mercado com fontes de proteína de outros animais mais tradicionais como a carne bovina, os produtores de carne de ovinos necessitam da melhoria nas técnicas de criação dos animais para abate e conservação com estratégias competitivas eficazes no que se refere a fatores de redução de custos de produção e oferta de produtos com qualidade para os consumidores cada vez mais exigentes (DERVISEVIC, et.al. 2017).

Os números mais atuais do rebanho nacional de ovino mostram um efetivo de 18,4 milhões em 2016. Apresentando crescimento constante entre os anos de 2007 e 2011, uma significativa redução do rebanho em 2012, causada pela seca constante na região Nordeste. A partir de 2013 o rebanho ovino retomou a trajetória de crescimento, que perdura até o ano de 2016. Houve aumento da participação da Região Nordeste, a qual passou de 57% em 2007 para 63% em 2016 (EMBRAPA 2017).

A produção nordestina culturalmente voltada à produção de carne é uma atividade produtiva tradicional e está associada à história das regiões. O estado do Rio Grande do Sul historicamente apresenta o maior rebanho ovino do país. No entanto, no ano de 2016 o estado da Bahia passou a dividir essa posição ao apresentar o rebanho de 3.497.190 animais, enquanto no Rio Grande do Sul o rebanho é de 3.496.904 (EMBRAPA, 2017).

Apesar do estado da Bahia apresentar o maior rebanho ovino nos dados da Pesquisa Pecuária Municipal do IBGE, desde o ano de 1974. Esse registro é importante, em detrimento a os sucessivos anos de seca que atingem a região Nordeste desde o ano de 2012. O estado de Pernambuco apresentou um bom desempenho ao longo dos últimos dez anos, saindo da quinta posição em 2007 para a terceira em 2016, ultrapassando o estado do Ceará (EMBRAPA, 2017).

Os baixos níveis de produção da carne ovina demandados pelo mercado brasileiro acima da oferta desses produtos cárneos determinam a necessidade de importação. Com isso pode-se criar estratégias de produção que consiste em

adquirir ferramenta no manejo interno brasileiro para equilibrar o mercado e possibilitar a oferta de carne com preço mais acessível e uma maior durabilidade na exportação (VIANA *et al.*, 2013).

O valor econômico associado ao coxão está na sua totalidade relacionada à região da coxa observamos na seqüência, os músculos que constituem o coxão de ovinos tais como: bíceps femoral, semitendinoso, semimembranoso, adutor e quadríceps femoral, tensor da fáscia lata, glúteo médio, profundo e acessório, sartório, grácilis, pectíneo, gêmeos, obturadores, gastrocnêmio, flexor digital superficial, reto femoral, vasto lateral, medial, intermédio, extensor digital, fibular longo, fibular terceiro, extensor digital longo e poplíteo. E os ossos formadores do coxão tais como: ísquio, ilíaco, púbis, fêmur, tibia, fíbula e patela. (PURCHAS, *et.al.* 1991).

## 2.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DA CARNE

Carnes frescas são produtos de valor agregado, que requerem técnicas de embalagem e estocagem capazes de garantir que chegue ao consumidor sem maiores perdas da qualidade (KHAN, *et al.*, 2016). A paleta e o coxão representam mais de 50% do peso total das carcaças, sendo estes cortes, os que melhor determinam o seu conteúdo histológico (KHEZRIAN, *et al.*, 2018).

A queda do pH e da temperatura durante o processo de *rigor mortis* das carcaças influenciam na qualidade da carne. A velocidade desse processo é controlada, pela reserva de glicogênio, e preservação do pH e temperatura do músculo. A determinação do tamanho de sarcômero indica uma relação positiva entre sua dimensão e o desenvolvimento do rigor mortis, bem como da maciez da carne. Por outro lado, em animais mais velhos ocorre uma diminuição da solubilidade da proteína colágena, resultando assim em carnes mais duras (SANTANA, 2017).

O oxigênio atmosférico causa a oxidação da mioglobina sobre a gordura, modificando as características histológicas da carne assim como a temperatura de estocagem, as enzimas líticas produzidas pelo animal, umidade do músculo e do ambiente e a exposição à luz e a atuação de microrganismos deterioradores aeróbios na superfície são os principais fatores associados à degradação, uma vez

que as fibras internas do músculo é um ambiente estéril até o momento do corte. (RAMOS, 2016).

Os lipídeos têm papel determinante na atratividade da carne, já que a sua concentração e composição estão ligadas as propriedades sensoriais, tais como textura, sabor, cor e aroma. Com a oxidação lipídica a carne desenvolverá sabores e odores indesejáveis, causadas por reações com os ácidos graxos insaturados, resultando na formação de compostos potencialmente tóxicos, impróprios para o consumo ou para a atratividade do produto. (CARDOSO, 2016).

Os diversos problemas na ovinocultura de corte, na falta de acompanhamento fiscalizador pelos órgãos de vigilância sanitária comprometem a qualidade da carne ovina, exercendo forte influência sobre a qualidade das carcaças, com isso apresentando riscos à saúde dos consumidores e. (RAMOS, et al., 2014). Isso leva a crer que há uma parcela de consumidores que optam pela carne proveniente de abate obedecendo a técnicas rústicas culturais, classificada como produtos do interior, obtendo-a direto do produtor, negligenciando cuidados com a higiene do local de abate e do alimento. Há informalidade do abate de ovinos em maior parte nas cidades interiores, ganha *status* de um produto com procedência interiorana (RAMOS, 2016).

Para o aumento e estabilidade no mercado de produtos cárneos e seus derivados de ovinos no Brasil faz-se necessário a maximização na qualidade das carcaças produzidas (ABDALHAI, et.al., 2015).

A carne *in natura* tem vida útil de 24 horas, quando armazenados em temperatura ambiente (30°C a 35°C), mas pode ser preservada por mais tempo à temperatura de refrigeração, inferior ou igual a 4°C (CEYLAN, et al., 2018). Sinais de deterioração, como aromas desagradáveis, são detectados quando a população de microrganismos atinge cerca de 110 UFC/cm<sup>2</sup> e a contaminação torna-se aparente somente quando a população está próxima a 10<sup>8</sup> UFC/cm<sup>2</sup> (ICMSF, 2009). A Comissão Internacional de especificações microbiológicas para alimentos estabelece o limite máximo de 10 log. UFC/g para aeróbios microrganismos de carne (ICMSF, 2009).

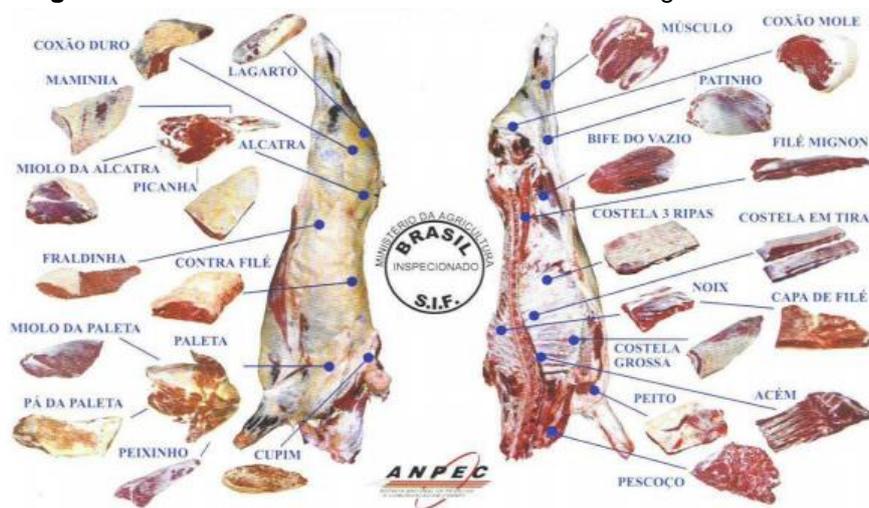
Devido à utilização por parte dos microrganismos de moléculas de baixo peso molecular tais como glicose, glicose-6-fosfato, ribose, glicerol e lactato observada à deterioração a partir de alterações no odor, sabor ou aparência mesmo durante o armazenamento. Inicialmente, os microrganismos que crescem na superfície de

carne usem a glicose preferencialmente. Quando a taxa de utilização da glicose excede a taxa de difusão dentro do tecido, haverá a degradação de aminoácidos (SHEKARFOROUSH, et al., 2015). Mesmo após o congelamento as bactérias patógenas ficam ativas na carne. Foram detectados em metade das amostras de carne de vaca, carneiro, cavalo e coelho congelados esporos de *C. perfringens* cultivadas em meio de cultura enriquecido, desses microrganismos isolados, apenas 2% dos produziram enterotoxina (ARKOUN et al., 2018). Durante o descongelamento, muitas vezes haverá o aumento no número de bactérias, pois a temperatura superficial da carne aumenta rapidamente atingindo rapidamente a temperatura ambiente até o completo descongelamento, desta forma permitindo o crescimento de microrganismos mesófilos (ZHU et al., 2017).

### 2.3 MORFOLOGIA E HISTOQUÍMICA DO MÚSCULO DE OVINOS

Carcaças com cobertura de gordura desuniforme ressecam mais rapidamente no processo de armazenamento ao frio, causando depreciação ao produto (JIN et al., 2018). Contudo a dissecação da carcaça na sua totalidade, ou apenas da metade, é feita em casos especiais de mercado, pois requer muito tempo dos produtores por ser um procedimento lento e trabalhoso (JIN et al., 2018). O mais comum é a desossa dos principais cortes comerciais de acordo com a imagem 01, ou daqueles que sejam representativos da composição da carcaça quando solicitados pelos clientes (JIN et al., 2018).

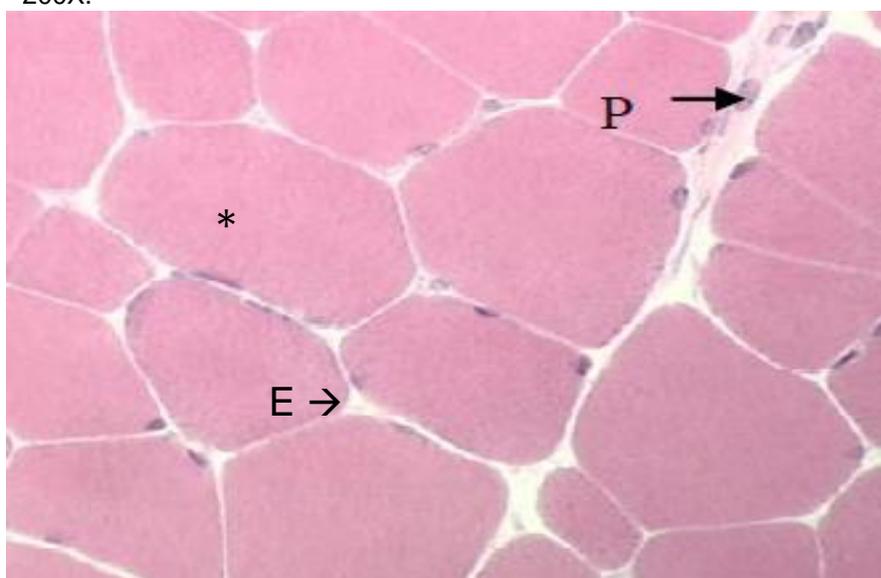
**Figura 01-** Cortes de carneiro realizado em Porto Alegre.



**Fonte:** Osório e Osório, (2003).

Cortes transversais do músculo estriado esquelético *de ovinos corados em* hematoxilina e eosina, visualizados no microscópio de luz no aumento de 200x. de ovinos abatidos aos 60 dias de vida, demonstraram fibras com aspectos poligonais, endomísio e perimísio bem evidente com fibras poligonais como mostram a figura 02 (SANTELLO et al., 2009). Os músculos estriados esqueléticos dos mamíferos são classificados em: fibras vermelhas, fibras brancas e fibras intermediárias, A frequência nos tipos de fibras musculares esqueléticas nos ovinos varia de acordo com a idade, espécie e as técnicas de criação adotadas pelos produtores (SANTELLO, 2009).

**Figura 02-** Cortes transversais do músculo carneiros corados em H.E. 200X.



Endomísio (E) e Perimísio (P) e fibras musculares poligonais (\*) **Fonte:** Santello et al., (2009).

Para esta classificação são considerados aspectos estruturais, como a velocidade de contração das fibras vermelhas que possuem um diâmetro pequeno o metabolismo oxidativo, metabólico e funcional destas fibras é lento, elevado teor de mioglobina o que proporciona uma coloração vermelha e apresentam grande número de mitocôndrias (GIUSTINA et al., 2017). Com tudo, estas características constituem fatores limitantes para um aumento da hipertrofia durante o desenvolvimento muscular do animal (GIUSTINA et al., 2017).

As fibras musculares brancas possuem diâmetro maior, metabolismo glicolítico, possui contração muscular rápida porem o número de mitocôndrias e as mioglobinas são menores caracterizando uma coloração mais clara. Já as fibras

intermediárias apresentam metabolismo oxidativo, glicolíticos e contração muscular rápida. A atividade física pode ter influência sobre as características metabólicas e funcionais das fibras musculares, onde o exercício físico intenso de curta e média duração induz a hipertrofia muscular, causando uma exposição mais acentuada nas fibras musculares brancas (ZIMET, et al., 2018).

## 2.4 CONSERVANTES QUÍMICOS

Os conservantes são utilizados para prevenir ou inibir o crescimento microbiano e evitar alterações químicas, porém tecnologia aplicada pela indústria de alimentos visando o aumento da vida útil de produtos cárneos gera questionamentos quanto à segurança na utilização dos aditivos químicos, onde, nem sempre é favorável a saúde humana (RENYU et al., 2018). O dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) e seus sais que incluem o sulfito de sódio, o sulfito de potássio, o bissulfito de potássio, o bissulfito de sódio e o metabissulfito de potássio e de sódio. São empregados como agentes inibidores de microrganismos e conserva a coloração natural da carne (ZAHRA et al., 2004), podendo mascarar estágios de deterioração, além de evitarem o escurecimento enzimático e não enzimático dos alimentos, porém o dióxido de enxofre inativo a vitamina B1 (PÉREZ, et al., 2018).

Outro grupo de aditivo utilizado na indústria de produtos cárneos são os nitritos e nitratos de sódio e de potássio, utilizados em sal de cura injetado por meio de solução em pernis, outros produtos cárneos para manter a cor, sabor e textura, além de servir como antioxidante (PÉREZ et al. 2018). Vários casos de metahemoglobinemia infantil provocaram anemia funcional e apóxia dos tecidos, tem sido associado a uma elevada ingestão de nitratos através de água (GOVARI & PEXARA, 2015). Foi ainda descoberta a formação de nitrosaminas e compostos nitrosos (considerados carcinogênicos) na forma de nitrito e nitrato (PORCELLI et al., 2016).

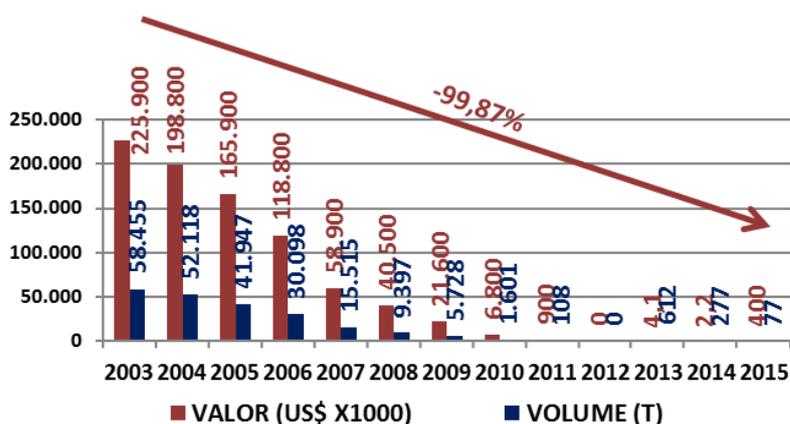
## 2.5 PROPRIEDADES E APLICAÇÕES DA QUITOSANA DE CAMARÃO.

A produção de camarão no ano de 2007 chegou a 3.275.726T e é um dos maiores produtos comercializados e mais valorizados, representando 16,5% das receitas internacionais de pesca (FAO, 2009). A produção de crustáceos cultivados no Nordeste do Brasil atingiu 63.750T em 2006, representando aproximadamente

98% da quantidade produzida no país (figura 03). O camarão branco do pacífico, *Litopenaeus vannamei*, é a espécie de camarão mais cultivada no Brasil (FAO, 2009).

O aumento da produção de camarão de criação levou a um maior descarte de resíduos no processamento das carcaças. O resíduo de processamento de camarão é um importante subproduto nas indústrias pesqueiras. As indústrias vêm dando ênfase a técnicas em adquirir moléculas bioativas, tais como a hidrólise, onde se conseguem facilmente adaptar a melhores condições na produção de alimento aproveitando os nutrientes hidrolisados a base de proteína (EGAN, et al., 2015).

**Figura 03** - Involução das exportações (2003 a 2015) de camarão marinho cultivado do Brasil



Fonte: REVISTA FEED & FOOD, 2018,

E não apenas o hidrolisado protéico é extraído das carcaças de camarão, a hidrólise é um dos passos na extração de muitas outras moléculas bioativas, como a quitina, que por subsequência pode-se produzir carotenóides e a quitosana (MIZANI et al., 2005). A proposta na utilização de proteases no processamento das carcaças de camarão apresentou um obstáculo aos produtores por terem um alto custo na produção de hidrolisado (Zhang, et al., 2018). A solução veio do próprio camarão onde encontramos no seu próprio intestino fontes naturais de enzimas digestivas, tais como peptidases (Yuan, et al., 2016). Além disso, cabeças de camarão é uma fonte de hidrolisado de proteína, quitina e quitosana, carotenóides. (ARKOUN, et al., 2018).

Nos últimos anos vêm-se investindo no uso de revestimentos comestíveis que tenham um efeito positivo, funcionando como barreira contra a penetração de umidade e oxigênio na preservação de produtos como frutas, carnes e queijos. Os

filmes comestíveis de origem sintética, biopolímeros ou filmes biodegradáveis, constituídos de materiais biológicos, vêm sendo empregados em produtos cárneos pelas empresas alimentícias. (PEREIRA, et.al., 2012). A produção destacando as características desses filmes está sendo estudados, pois podem atuar como barreira de fatores externos como água e O<sub>2</sub> e promover resistência aos produtos cárneos em relação ao manuseio e ao transporte. Além do mais, os filmes são incorporados como aditivos sem sabor aos produtos alimentícios, agentes antimicrobianos e fármacos (CHALESHTORI, et al., 2016).

A quitosana é um polissacarídeo obtido a partir da hidrólise alcalina do grupo N-acetil de quitina, o principal componente das cascas de crustáceos. As propriedades funcionais da quitosana vêm sendo explorada pelas indústrias alimentícias por suas atividades fisiológicas (AMARAL, et.al., 2016).

A propriedade antimicrobiana da quitosana pode também ser mediada pelas interações entre a quitosana carregada positivamente e as membranas celulares microbianas carregadas negativamente, causando o vazamento de proteínas celulares e outros constituintes intracelulares (GUO, et al., 2017). Além das propriedades físico-químicas da quitosana que é um biopolímero formador de filme comestível com fortes atividades antimicrobiana e antifúngica, onde tem sido aplicada com a função de preservação de alimentos (HADIAN, et.al., 2017).

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A aplicação do filme de quitosana produzida a partir da carapaça de camarão foi feita através de soluções formadoras de filme comestíveis, e foi possível aplicar de uma forma satisfatória pela técnica de imersão, proporcionando um maior contato com toda superfície das peças já que as peças de carne não tem um formato regular.
- No estudo histológico com a coloração picrosirius foi possível observar que houve uma preservação do tecido conjuntivo (endomísio e perimísio) do músculo de ovinos em comparação com a carne não revestida com quitosana, na coloração em H.E. houve uma resposta positiva na aplicação da quitosana na preservação morfológica das fibras musculares. Já a coloração de PAS não foi observada alterações quanto níveis de glicoproteínas presentes nas fibras musculares.
- Em relação à análise microbiológica por contagem em placa, a cobertura de quitosana mostrou-se eficaz na preservação da carne inibindo o crescimento e dos microrganismos mesófilos (37 °C) e psicotróficos (4° C).
- As análises da carne com a cobertura comestível de quitosana demonstrou uma eficiência na diminuição da variação do pH da carne de ovinos, diminuindo os efeitos *post-mortem*.
- A dosagem de compostos que são sujeitas a reação ao Ácido tiobarbitúrico (TBARS) e possível observar uma diminuição na oxidação lipídica carne revestidas com quitosana, sugerindo que a cobertura de quitosana diminui o contato com o oxigênio ambiente.

## REFERÊNCIAS

- Abdulai, M.H., Fernandes, A.M., Xia, X., Musa, A., Ji, J., Sun, X. **Electrochemical Genosensor to Detect Pathogenic Bacteria (Escherichia coli O157:H7) As Applied in Real Food Samples (Fresh Beef) to Improve Food Safety and Quality Control**, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63 (20), pp. 5017-5025; 2015.
- Amaral, D.S., Cardelle-Cobas, A., Do Nascimento, B.M.S., Madruga, M.S., Pintado, M.M.E. **Goat sausages containing chitosan towards a healthier product: Microbiological, physico-chemical textural evaluation**, Food and Function, 7 (9), pp. 4020-4029; 2016.
- Arkoun, M., Daigle, F., Holley, R.A., Heuzey, M.C., Aji, A. **Chitosan-based nanofibers as bioactive meat packaging materials**, Packaging Technology and Science, 31 (4), pp. 185-195, 2018.
- Cahú TB, Santos SD, Carolina AM, Córdula CR, Chavante SF, Carvalho LB JR, Nader HB, Bezerra RS, **Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific whiteshrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste**. Process Biochem 47:570–577, 2012.
- Cardoso, G.P., Dutra, M.P., Fontes, P.R., Ramos, A.D.L.S., Gomide, L.A.D.M., Ramos, E.M. **Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display**, Meat Science, 114, pp. 85-94; 2016.
- Ceylan, Z., Sengor, G.F.U., Yilmaz, M.T. **A Novel Approach to Limit Chemical Deterioration of Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) Fillets: Coating with Electrospun Nanofibers as Characterized by Molecular, Thermal, and Microstructural Properties**, Journal of Food Science, 82 (5), pp. 1163-1170; 2017.
- Chaleshtori, R.S., Taghizadeh, M., Khanalizadeh, A., Hesami, S., Heidaryan, Z., Sahebajami, P., Khatami, M. **The effects of chitosan incorporated with eucalyptus and cuminum essential oils on storage time of oncorhynchus mykiss**, Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 25 (133), pp. 150-161; 2016.
- Dervisevic, M., Dervisevic, E., Çevik, E., Şenel, M. **Novel electrochemical xanthine biosensor based on chitosan–polypyrrole–gold nanoparticles hybrid bio-nanocomposite platform**, Journal of Food and Drug Analysis, 25 (3), pp. 510-519; 2017.
- EMBRAPA, Ovinocultura e Caprinocultura Conjuntura econômica, aspectos produtivos de 2017 e perspectivas para 2018, – **Dados eletrônicos. Sobral, CE : Embrapa Caprinos e Ovinos, 1ª EDIÇÃO 2017**, [https://www.embrapa.br/documents/1355090/0/Boletim+CIM+\\_2/d8f4f48a-b0e9-469f-4619-011fe3c6a058](https://www.embrapa.br/documents/1355090/0/Boletim+CIM+_2/d8f4f48a-b0e9-469f-4619-011fe3c6a058), acessado dia 02/06/18 as 10:42h. (2017).
- Egan, Á.M., Sweeney, T., Hayes, M., O'Doherty, J.V. **Prawn shell chitosan has anti-obesogenic properties, influencing both nutrient digestibility and microbial populations in a pig model**, PLoS ONE, 10 (12), art. no. e0144127; 2015.

Fang, Z., Lin, D., Warner, R.D., Ha, M. **Effect of gallic acid/chitosan coating on fresh pork quality in modified atmosphere packaging**, Food Chemistry, 260, pp. 90-96, 2018.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2007. Rome: **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Fisheries e Aquaculture Department; 2009.

Feng, C.-H., Liu, Y.-W., Makino, Y., García Martín, J.F., Cummins, E. **Evaluation of modified casings and chitosan-PVA packaging on the physicochemical properties of cooked Sichuan sausages during long-term storage**, International Journal of Food Science and Technology, 52 (8), pp. 1777-1788; 2017.

Giustina N.D.; Dayane M.R.; Bacha F.B. **levantamento das principais causas de morte dos ovinos da fazenda escola da unigran**, A Revista Eletrônica da Faculdade de Ciências Exatas e Agrárias Produção/construção e tecnologia, v. 7, n. 10, 2017

Govari, M. & Pexara, A., Nitrates and nitrites in meat products, Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, 66 (3), pp.127–140. 2015.

Guo, L., Meng, Y., Fang, S. **Physicochemical and antimicrobial properties of  $\epsilon$ -polylysine/carboxymethyl chitosan polyelectrolyte complexes and their effect against spoilage microorganisms in raw pork**, Food and Function, 8 (6), pp. 2243-2248; 2017.

Hadian, M., Rajaei, A., Mohsenifar, A., Tabatabaei, M. **Encapsulation of Rosmarinus officinalis essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antibacterial activity in beef cutlet against Salmonella typhimurium during refrigerated storage**, LWT - Food Science and Technology, 84, pp. 394-401; 2017.

He, L., Zou, L., Yang, Q., Xia, J., Zhou, K., Zhu, Y., Han, X., Pu, B., Hu, B., Deng, W., Liu, S. **Antimicrobial Activities of Nisin, Tea Polyphenols, and Chitosan and their Combinations in Chilled Mutton**, Journal of food science, 81 (6), pp. M1466-M1471; 2016.

Hu, J., Wang, X., Xiao, Z., Bi, W. Effect of **chitosan nanoparticles loaded with cinnamon essential oil on the quality of chilled pork**, LWT - Food Science and Technology, 63 (1), pp. 519-526; 2015.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). **“Relating Microbiological Criteria to Food Safety Objectives and Performance Objectives”**. van Schothorst, M., Zwietering, M., Ross, T., Buchanan B., Cole, M. Food Control, 20:967-979, 2009.

Jin B., Niu J., Dai J., Li N., Zhou P., Niu J., Zhang J., Tao H., Ma Z., Zhang Z. **New insights into the enhancement of biochemical degradation potential from waste**

**activated sludge with low organic content by Potassium Monopersulfate treatment**, *Bioresource Technology*, Volume 265, 2018

Khan, A., Gallah, H., Riedl, B., Bouchard, J., Safrany, A., Lacroix, M. **Genipin cross-linked antimicrobial nanocomposite films and gamma irradiation to prevent the surface growth of bacteria in fresh meats**, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 35, pp. 96-102; 2016.

Khezrian, A., Shahbazi, Y. **Application of nanocomposite chitosan and carboxymethyl cellulose films containing natural preservative compounds in minced camel's meat**, *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, pp. 1146-1158; 2018.

Mizani M, Aminlari M, Khodabandeh M. **An effective method for producing a nutritive protein extract powder from shrimp-head waste**. *FoodSciTechnolInt*;11:49–56. 2005

PEREIRA D.A.A., MAROTO J, VILLALBA R. K., CRUZ J.M., **Antioxidants from barley husks impregnated in films of low-density polyethylene and their effect over lipid deterioration of frozen cod (*Gadus morhua*)**. *J SciFoodAgric* 92:427–432, 2012.

Pérez-Nevado F., Cabrera-Bañegil M., Repilado E., Martillanes S., Martín-Vertedor D., **Effect of different baking treatments on the acrylamide formation and phenolic compounds in Californian-style black olives**, *Food Control*, Volume 94, 2018.

Porcelli, S., Pugliese, L., Rejc, E., Pavei, G., Bonato, M., Montorsi, M., La Torre, A., Rasica, L., Marzorati, M., **Effects of a Short-Term High-Nitrate Diet on Exercise Performance**, *Nutrients*, 8 (9), pp.534–546. 2016.

PURCHAS, R. W. et al. **An objective measure of muscularity: changes with animal growth and differences between genetic lines of Southdown sheep**. *Meat Science*, v. 30, p. 81-94, 1991.

Ramos, E. M. **Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display**. *Meat Science*, 114, 85–94. Franca EF, 2016.

Ramos, E. M. **Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display**. *Meat Science*, 114, 85–94. Franca EF, 2016.

RAMOS, M. J. et al. **Sistema agroindustrial da carne ovina no Oeste paranaense**. *Revista de Política Agrícola*, v. 23, n. 1, p. 18-32, 2014.

Santana T. M., Gléria A. A., Paim T. P., Arantes B. M., Silva P. R. S., Silva R. M. A., **Avaliação das características sensoriais da carne de novilhas mestiças zebuínas e européias terminadas em sistema de integração**, *Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE) (ISSN 2447-8687)*, 2017.

SANTELLLO, G.A.; MACEDO, F.A.F.; DIAS, F.J. et al. **Desempenho e características histoquímicas do tecido muscular esquelético de cordeiras terminadas em diferentes sistemas.**Acta. Sci. Anim. Sci, v.31, p.425-431, 2009

Shekarforoush, S.S., Basiri, S., Ebrahimnejad, H., Hosseinzadeh, S. **Effect of chitosan on spoilage bacteria, Escherichia coli and Listeria monocytogenes in cured chicken meat,** International Journal of Biological Macromolecules, 76, pp. 303-309; 2015.

VIANA, J.G.A., REVILLION, J.P.P. e SILVEIRA, V.C.P., **Alternativa de estruturação da cadeia de valor da ovinocultura no Rio Grande do Sul.** Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional, Taubaté, v. 9, n. 1, p. 187-210, 2013.

Yuan, G., Chen, X., Li, D. **Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems,** Food Research International, 89, pp. 117-128; 2016.

Zahra D., Gea O.C., Ali He, Motahreh S.H., Fateme A.M., Hamidreza G., Samane K., Elham K., Margherita F., **Survey on the effects of electron beam irradiation on chemical quality and sensory properties on quail meat,** Food and Chemical Toxicology, V. 112, p. 416-420, 2018.

Zhang, H., He, P., Kang, H., Li, X. **Antioxidant and antimicrobial effects of edible coating based on chitosan and bamboo vinegar in ready to cook pork chops,** LWT, 93, pp. 470-476, 2018.

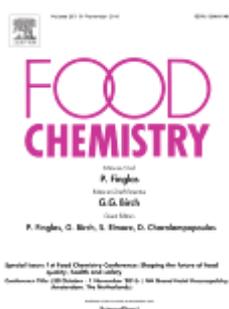
Zhu, Y., Wang, Y., Fan, X., Ma, L., Wang, K. **Metagenomic analysis of bacterial phases of catfish fillets under different storage conditions,** Scientia Agricultura Sinica, 50 (5), pp. 913-923. 2017.

Zimet, P., Mombrú, Á.W., Faccio, R., Brugnini, G., Miraballes, I., Rufo, C., Pardo, H. **Optimization and characterization of nisin-loaded alginate-chitosan nanoparticles with antimicrobial activity in lean beef,** LWT - Food Science and Technology, 91, pp. 107-116, 2018.

## APÊNDICE A - ARTIGO CIENTÍFICO

Cobertura comestível de quitosana para aumento do tempo de prateleira da carne de carneiro refrigerada

Será submetido para publicação no periódico internacional: FoodChemistry



ISSN: 0308-8146

Fator de Impacto: 4.946

**COBERTURA COMESTÍVEL DE QUITOSANA PARA EXTENÇÃO DO TEMPO DE PRATELEIRA DA CARNE DE CARNEIRO REFRIGERADA**

Alex Benicio da Silveira Junior; Janilson Felix da Silva; Thiago Barbosa Cahú, Alex Benicio da Silveira; Andreia Cybelle Marques Ferreira, Elizabel Oliveira Silva de Melo, Ranilson de Souza Bezerra.

Endereço: Laboratório De Enzimologia, Departamento De Bioquímica, Universidade Federal De Pernambuco – UFPE, 50670-901, Av. Prof. Moraes Rego.

Dados do autor:

E-mail: [ransoube@uol.com.br](mailto:ransoube@uol.com.br)

Telefone: 081 98823 1073

## RESUMO

Coberturas comestíveis a base de polissacarídeos são formas eficientes de aumentar o tempo de prateleira e a estabilidade das características físico-química e microbiológicas de alimentos. Funções como a barreira contra a troca de gases, perda de água e a inibição da deterioração por microrganismos são fatores desejáveis em uma cobertura eficiente. Assim, neste estudo foi avaliada a ação da cobertura comestível de quitosana extraída da carapaça de camarão na conservação do coxão de carneiro sob refrigeração. Os tratamentos foram aplicados nas amostras por imersão com solução de quitosana na concentração 1% (CQ) para formação de cobertura comestível, ácido acético a 1% (CA) e controle sem a cobertura (C). As análises foram feitas periodicamente em intervalos de 0, 10, 20 e 30 dias. As amostras para análise histológica foram fixadas em Bouin ainda no local de coleta e coradas em ácido periódico de schiff, hematoxilina/eosina e picrosírius para análise morfológica e histoquímica. Nas determinações físico-químicas, as amostras foram trituradas em água destilada para aferir o pH; e a oxidação lipídica foi realizada com o método de reação pelo ácido tiobarbitúrico – TBARS determinando a absorvância com espectrofotômetro a 532 nm. Para microbiologia. Foram trituradas 25g de carne em 250ml de água peptonada a 1% em diluições de 1/10 e 1/100ml, retirada uma alíquota de 1ml das diluições foram submetidas à técnica de “pour-plate” em placas de Petri contendo 15ml do meio PCA e armazenados a 4°C para análise das bactérias psicotróficas e 37°C em estufa para bactérias mesófilas. O revestimento de quitosana retardou a oxidação lipídica durante o período de refrigeração. As alterações morfológicas observadas por microscópio de luz das fibras musculares e tecido conjuntivo do grupo (C) em comparação com o grupo (CQ) e (CA), foram significativamente degradadas. Houve uma eficácia na estabilidade na variação do pH da carne submetida ao tratamento com cobertura de quitosana. O revestimento demonstrou também um efeito bactericida na carne inibindo das bactérias o crescimento das bactérias na carne. O revestimento comestível de quitosana extraída de camarão foi eficaz em prolongar a estabilidade química e microbiológica das amostras de carne de carneiro. Este tratamento possibilitou estender o tempo de prateleira e permitindo uma melhor logística de comercialização.

Palavras-chave: Revestimento. Oxidação lipídica. Histologia. Eosina. Picrosírius.

## INTRODUÇÃO

O mercado da carne de carneiro está em crescimento em diversos países do mundo inclusive no Brasil, onde a região do Nordeste é o maior produtor do Brasil que por sua vez é o segundo maior produtor da América Latina após o Peru. Entretanto os maiores produtores mundiais é a Nova Zelândia e a Austrália, porém não estão suprindo as necessidades do mercado mundial (RAMOS, 2016). O nível protéico, assim como a umidade e o pH presente nos produtos cárneos proporciona um ambiente propício ao crescimento de microrganismos, tornando esses produtos ótimo meio de cultura natural. (ALNOMAN, 2017). A venda do produto embalado em cobertura comestível possibilita à comercialização de carne ovina com qualidade comercial, obtendo mais possibilidades de mercado para a indústria alimentícia voltada a produtos cárneos com qualidade para o consumidor. (EYILER, 2017).

A oxidação, hidrólise e polimerização dos lipídeos resultam na formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos, impróprios para o consumo ou para a atratividade do produto desenvolvendo sabores e odores indesejáveis (FISHER, 2016). Por tanto carne *in natura* tem vida útil de 24 horas, quando armazenados em temperatura ambiente (30°C a 35°C), mas pode ser preservada por mais tempo à temperatura de refrigeração, inferior ou igual a 2°C (FERREIRA, 2018). Sinais de deterioração, como aromas desagradáveis, são detectados quando a população de microrganismos atinge cerca de 110 UFC/cm<sup>2</sup> e a contaminação torna-se aparente somente quando a população está próxima a 10<sup>8</sup> UFC/cm<sup>2</sup> (ICMSF, 2009). E a Comissão Internacional de especificações microbiológicas para alimentos, estabelece o limite máximo de 10 log UFC/g para aeróbios microrganismos de carne (ICMSF 1986).

O aumento nacional da produção de camarão criados em viveiros foi proporcional a quantidade de resíduos do processamento das carcaças, chegando até a 50% do peso total da produção. O resíduo do processamento de camarão é um importante subproduto nas indústrias pesqueiras. As indústrias tentam se adaptar a produção de alimento aproveitando os nutrientes hidrolisados à base de proteína dos resíduos na obtenção de moléculas bioativas (JUNG, et al., 2018).

A quitosana é um polissacarídeo obtido a partir da hidrólise alcalina do grupo N-acetil de quitina, principal componente das cascas de crustáceos. As propriedades funcionais da quitosana vêm sendo explorada pelas indústrias alimentícias por suas

atividades fisiológicas (GALLAHER et.al. 2002). Com isso a quitosana pode ser utilizada na forma de cobertura comestível com atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos patógenos e estabilizante das características físico-químicas (DIMA, et.al., 2015).

O objetivo desse trabalho foi avaliar as alterações físico-químicas (ph e TBARS), microbiológicas (psicrotróficos e mesófilos) morfológicas e histoquímica no tecido muscular da carne de carneiro submetidas ao revestimento comestível de quitosana extraído da carapaça de camarão na conservação do coxão de carneiro objetivando o aumento do tempo de prateleira armazenada em resfriamento de 3°C a 4°C.

## PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

### COLETA DAS AMOSTRAS

A coleta de coxão de carneiro macho com 4 meses de idade da raça santa Inês a serem analisados ocorreu nas dependências do mercado público do município de Gravatá-PE. Os animais foram obtidos de um criadouro popular de pequeno porte, abatidos com 3 a 4 meses de idade com o peso médio de 23 a 25Kg, mantendo técnicas culturais de criação. O coxão foi condicionado em recipiente estéril dentro de uma caixa térmica com gelo e levado para o laboratório de enzimologia – LABENZ da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. A carne foi fragmentada em grupos de 3 amostras (C), (CA) e (CQ) com 25g cada fragmento, embalada em sacos estéreis para as análises microbiológicas, 10g foram imersos em fixados bouin para análise histológica e histoquímica ainda no local de coleta e levado para o laboratório de histotécnica no Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE e para análise físico-química (pH e índice de TBARS) foi utilizado 30 g de carne, todas as análises foram feitas em triplicata.

### PREPARAÇÕES DE SOLUÇÕES E APLICAÇÃO DE REVESTIMENTO

A quitosana foi obtida a partir de cabeças de camarão da espécie *Litopenaeus vannamei* de acordo com a metodologia descrita por Cahúet al., (2012). A solução de revestimento foi preparada por dissolução de quitosana a 1% (pm/v) em ácido acético a 1% (v/v), utilizando um agitador magnético à temperatura ambiente (25°C) e depois esterilizado por luz UV durante 15 minutos. Os cubos de carne foram separados em três grupos de acordo com o tratamento utilizado: cubos sem revestimento, com o revestimento de quitosana e revestidos com solução de ácido acético, as soluções serão aplicadas por imersão, nos grupos de controle e tratados. As amostras foram colocadas em sacos de armazenamento de plástico estéril e armazenadas a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  por 30 dias. As análises morfológicas, histoquímicas, físico-químicas e microbiológicas das amostras do coxão de carneiro, foram realizadas com intervalos de 10 dias.

## pH

Vinte gramas de cada amostra da carne de carneiro foram triturados com um Mixer em 100 mL de água destilada durante 1 min, a mistura foi filtrada através de papel de filtro Whatman nº 1, onde o pH do filtrado foi medido usando um medidor de pH digital (SANTOS et al., 2017).

## COMPOSTOS REATIVOS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)

A oxidação lipídica das amostras foi realizada medindo substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) como descrito por Ganiari, (2017). Uma porção 20g de amostras do músculo de carneiro triturada um Mixer e homogeneizada com 200 ml de solução contendo 0,375% de ácido tiobarbitúrico (Baker Analyzer, Áustria), 15% de ácido tricloroacético e HCl 0,25 M. A mistura foi aquecida em um banho de água a 100°C durante 10 minutos para desenvolver uma cor rosa, as amostras foram esfriada em temperatura ambiente e centrifugada a 3600g na temperatura de 25°C durante 20 minutos. A absorbância do sobrenadante foi medida por um espectrofotômetro a 532nm.

O 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) foi usado para o desenvolvimento da curva padrão com a mesma técnica substituindo a amostra. O TBARS foi expresso como mg de equivalentes de malonaldeído (MDA)/kg de carne (mg de MDA eq/g de carne) de todos os grupos (controle, com quitosana e com ácido) (SANTOS et.al. 2017).

## MORFOLOGIA E HISTOQUÍMICA

As análises histológicas e histoquímica dos músculos do coxão foram realizadas no laboratório de Citologia e Histologia Quantitativa do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

Partes do músculo foram retiradas com o auxílio de um bisturi. Não é indicada a extração de porções grandes, uma vez que o objetivo final é a obtenção de uma camada fina que possa ter uma boa penetração do fixador. Logo após a sua remoção, os fragmentos foram seccionados com auxílio de bisturi, retirando-se

amostras (fragmentos medindo 2cmx2cmx2cm aproximadamente) as quais foram imersas imediatamente em líquido de Bouin (BEHMER, 1976), sendo mantidos imersos no mesmo por 24h. Após este período as amostras foram desidratadas numa série crescente de etanol (NEON, Ref. 03467 P.A.) e clarificadas em xilol (NEON, Ref. 02345 P.A.) para posterior inclusão em parafina histológica (Dinâmica, cod. 1025 fabricantes Químicas Contemporâneas Ltda.) e obtenção de blocos os quais foram posteriormente submetidos à microtomia (Micrótomo Spencer - AO). Os cortes resultantes com de 5 µm de espessura foram desparafinizados e as fitas obtidas a partir do micrótomo foram transferidas para um banho-maria, com o auxílio de uma pinça, para serem distendidas. Com a temperatura da água entre 30° C e 40° C. Para a retirada das dobras e evitar as bolhas abaixo da fita. Os cortes são “pescados” individualmente, utilizando lâminas de vidro. Os cortes obtidos podem ser transferidos, para uma estufa onde ficaram por 24 h. Logo após foram hidratados para coloração pelas seguintes técnicas histológicas e histoquímica:

Para análise morfológica foi aplicada a técnica de rotina onde as lâminas foram coradas com Hematoxilina/Eosina (H.E.) e picrosirius para a análise da preservação do tecido conjuntivo presente no músculo (endomísio, perimísio e epimísio). Todas as preparações histológicas/histoquímicas foram analisadas em um microscópio óptico Zeiss modelo AXIOLAB (Carl Zeiss, Germany).

## ANALISE MICROBIOLÓGICA

A análise microbiológica para contagem de microrganismos foi feita no laboratório de Enzimologia do Departamento de Bioquímica na UFPE, as amostras com 25 g foram trituradas e homogeneizadas em 250 ml de água peptonada a 1% e 5% de NaCl, previamente esterilizada em autoclave para a diluição de 1/10ml e 1/100ml em tubos de ensaio. Uma proporção de 1/15 ml de cada diluição foi homogeneizada em placa de petri na técnica de *pourplate* com o meio de cultura para contagem em placa (PCA) Sigma, encubadas no período de 10 dias na temperatura de 4° C para o crescimento de microrganismos psicrótrópicos e foram encubadas na temperatura de 37° C por 48 h para o crescimento das bactérias mesófilas. Todas as amostras foram analisadas em triplicata. As colônias obtidas foram fotografadas para facilitar a contagem com o software Colony count

desenvolvida pela promega corporation, e os dados microbiológicos foram convertidos em logaritmos das unidades formadoras de colônias (UFC/g).

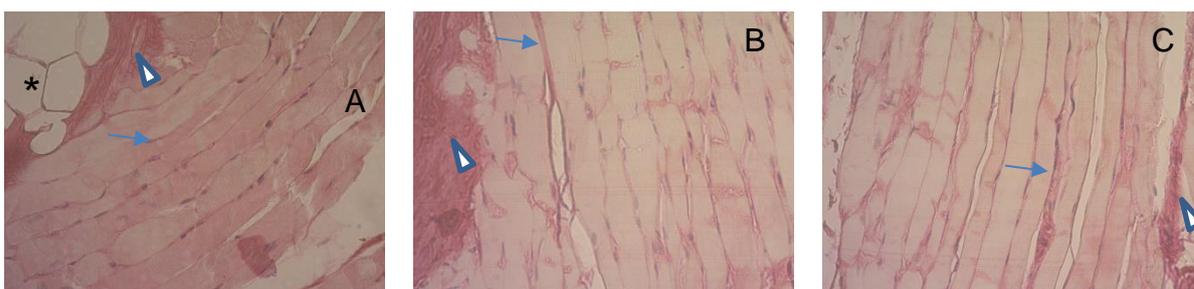
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### MORFOLOGIA E HISTOQUÍMICA

#### Músculo

As amostras de todos os grupos quando comparados no tempo 0 de refrigeração a 4° C, coradas com a técnica de rotina com hematoxilina e eosina (H.E.) e picrossirius, foi observado um padrão histológico bem delimitado e envolvidos por bainha de tecido conjuntivo formadora do perimísio e cada fibra por sua vez pelo endomísio revestindo o músculo por inteiro, observamos o epimísio também formado por tecido conjuntivo rico em adipócitos logo abaixo, bem como entre os fascículos em refrigeração na temperatura de 4° C. (figura 01) Assim como colorações feitas por Santello et al., (2009) as preparações histológicas coradas pela Hematoxilina e Eosina, da porção superficial mediana da carne de ovinos, apresentou-se constituída de fibras com aspecto poligonal, agrupadas em fascículos bem delimitadas, com diferentes tamanhos de área e endomísio evidente.

**Figura 01** - Fotomicrografias do músculo estriado esquelético em corte longitudinal das amostras H.E. (aumento de 10x100 vezes).

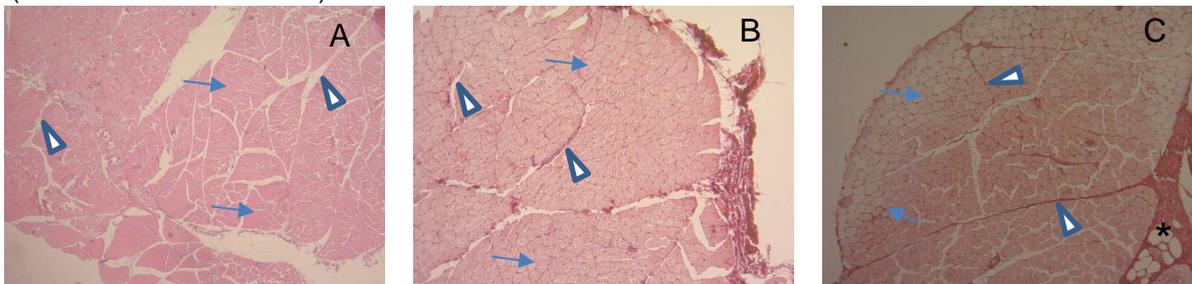


Sem quitosana (A), com ácido (B) e com quitosana (C), no tempo 0 de armazenamento sob resfriamento a 4°C, fixado com bouin e corado com picrossirius e hematoxilina, demonstrando um padrão entre as fibras musculares revestidas pelo endomísio (→), em corte transversal, apresentando o perimísio (↘) revestindo o feixe muscular, observando em a presença de tecido adiposo (\*).

Nos demais tempos 10, 20 e 30 dias de armazenamento sob refrigeração a 4° C, os grupos (C) e (CA) houve rompimento e alargamentos das bainhas de tecido conjuntivo em várias regiões; as fibras musculares apresentaram-se desorganizada, contraídas e com diversos espaçamentos pela ausência do endomísio; envolvendo o

músculo por inteiro, observamos também a diminuição do tecido conjuntivo formador do Epimísio. Os fragmentos revestidos com a cobertura comestível de quitosana (CQ) obtiveram uma diminuição no processo *post mortem* (figura 02).

**Figura 02** - Fotomicrografias do músculo estriado esquelético em corte transversal, picrossirius (aumento de 4x100 vezes)

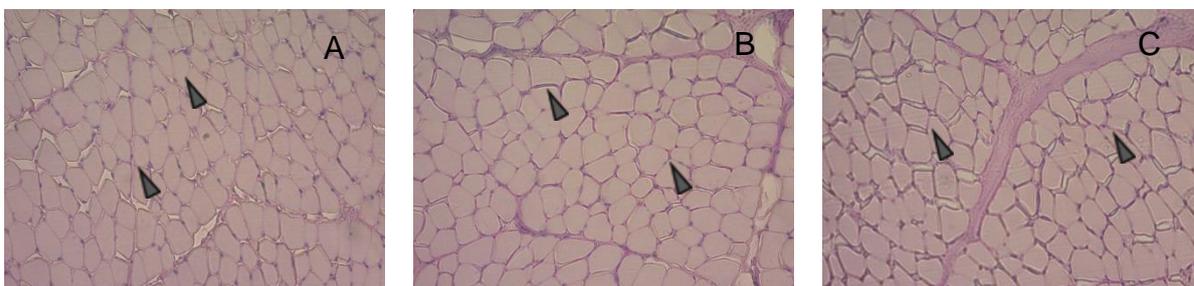


Amostras sem quitosana (A) apresentando ausência de perimísio, endomísio e epimísio, o tecido conjuntivo formador do endomísio (→), e do perimísio (↘), amostras com ácido (B) parcialmente conservadas, amostras com quitosana (C) apresentando perimísio, endomísio e epimísio com adipócitos (\*). No tempo 30 dias de armazenamento sob resfriamento a 4°C, fixado com bouin, corado com picrossirius e hematoxilina.

### Fibras musculares

Os cortes transversais do músculo estriado esquelético de carneiro apresentaram-se endomísio bem delimitado e as fibras musculares esqueléticas com sarcoplasma dentro da normalidade morfológica em todos os grupos, porém, de acordo com a figura 03 não foi observada distinção entre as características glicolíticas das fibras musculares em nenhum dos grupos (C, CQ e CA), no tempo 0 de armazenamento sob refrigeração a 4°C coradas pelo ácido periódico de schiff (PAS). porém, o trabalho de Santos, et al. (2010) é possível a identificação das fibras glicolíticas, que possuem o glicogênio em grande quantidade e são de contração lenta (fibras vermelhas), quando coradas pelo ácido periódico Schiff (PAS), reagindo de forma distinta, mostrando que as fibras musculares posicionadas na periferia dos feixes musculares, indicando a presença de glicoproteínas neutras e glicogênio, geram um composto de adição, violeta e insolúvel.

**Figura 03** - Fotomicrografias do músculo estriado esquelético em corte transversal, PAS (aumento de 40x100).

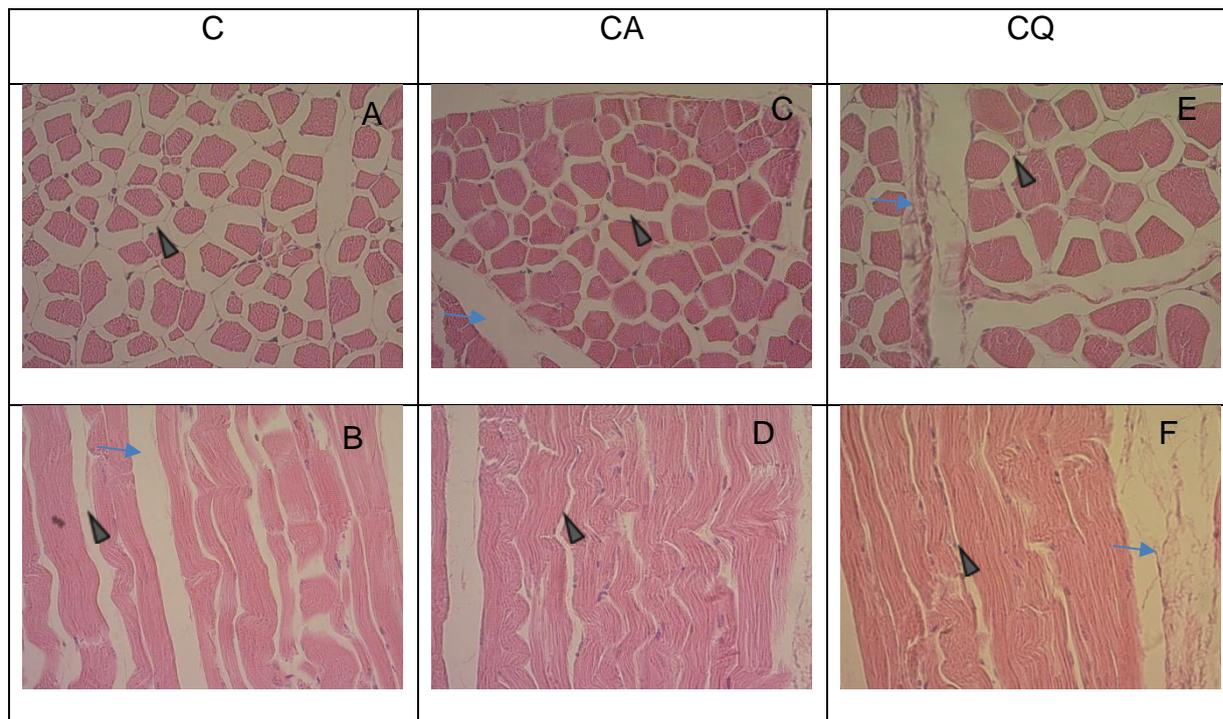


Amostras sem quitosana (A) com ácido (B) e com quitosana (C), no tempo 0 de armazenamento sob resfriamento a 4°C, fixado com bouin e corado com ácido periódico de schiff (PAS), demonstrando um padrão entre as fibras musculares revestidas pelo endomísio (▾) em A, B e C.

No grupo controle (C) foram observadas alterações histológicas nas fibras musculares de vários fascículos. Tais fibras exibiam descontinuidade no seu perfil com ruptura na membrana e desagregação dos miofilamentos. Foram encontradas fibras com cavidades no sarcoplasma, espaço entre as fibras e fascículos indicando a perda gradativa do tecido conjuntivo e ou tecido adiposo causando assim uma impressão desgastada na generalidade do tecido (figura 04 A e B). O grupo (CA) apresentou-se com as características histológicas, as fibras estão morfologicamente desgastadas, apresentando núcleos periféricos bem dispersos evidentes nos cortes transversais e cavidades sarcoplasmáticas também observadas nos cortes longitudinais que apresentaram também uma descontinuidade nas fibras, diminuição na espessura e estrias pouco aparente (figura 04 C e D).

Os resultados no grupo revestido (CQ) apresentam-se dentro da normalidade com a morfologia bem preservada, citoplasma eosinófilo (acidófilo) e presença de estrias transversais evidente nos cortes longitudinais. Cada fibra é multinucleada, sendo os núcleos dispostos periféricamente. Estes núcleos se mostraram com morfologia e cromatina com aspectos dentro da normalidade. Estas características nucleares também são evidentes nos cortes transversais observados na coloração de Hematoxilina/Eosina, e com a coloração de picrossirius observou a presença do tecido conjuntivo formador do endomísio preservados em todos os tempos analisados, indicando uma interação positiva com o revestimento de quitosana nas amostras com a cobertura comestível de quitosana, em comparação com as amostras (figura 04 E e F).

**Figura 04** - Fotomicrografias do músculo estriado esquelético em corte transversais e longitudinais H.E. (aumento de 40x100)



Amostras sem quitosana (A) e (B), com ácido (C) (D) e com quitosana (E) e (F) respectivamente, no tempo 30 de armazenamento sob resfriamento a 4°C, fixado com bouin e corado com H.E, endomísio (▴) e perimísio (→).

Foi observada em algumas amostras uma retração nas fibras musculares em geral provocadas pelo processamento histológico ainda muito manual e artesanal, onde inclui etapas como a desidratação por etanol, e a utilização de xilol em todo o processo, porém esses fatores não influenciaram nas análises histomorfológicas e histoquímicas do músculo de carneiro.

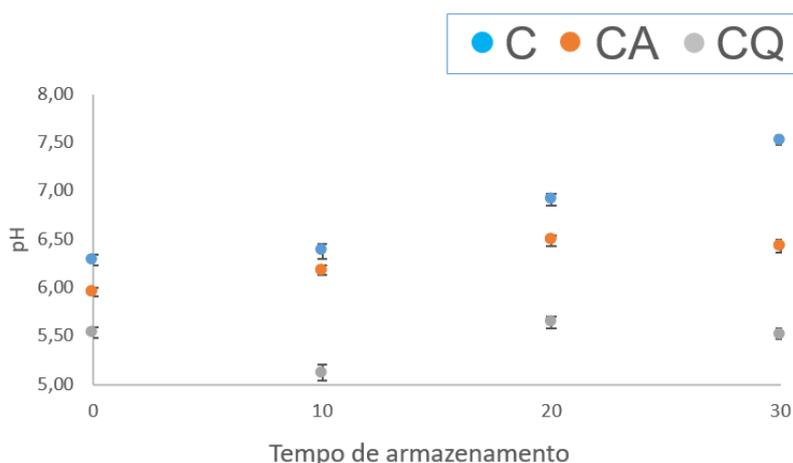
## pH

Os resultados observados demonstraram que durante período de armazenamento por 30 dias na temperatura de 4°C, houve uma diminuição nas alterações do pH da carne de ovinos quando submetidos aos tratamentos de quitosana a 1% (C) e com o ácido acético 1% (CA) no tempo inicial do armazenamento refrigerado em comparação ao grupo sem o tratamento de quitosana (C) cujos valores foram no tempo inicial de  $6,29 \pm 0,05$  para (C),  $5,95 \pm 0,04$  para os (CA) e  $5,54 \pm 0,06$  para os (C). As alterações podem ser explicadas, pela reação do ácido acético presente nos dois tratamentos (CA) e (C). O experimento está de acordo com Fan (2009), onde relatou que o pH da carne de carpa revestida

com quitosana foi aumentado durante os intervalos de tempo armazenados refrigerado, justificado pelo processo de degradação das proteínas da carne hidrolisadas por proteases endógenas, ou a ação de enzimas microbianas em moléculas voláteis de nitrogênio e amônia.

Os grupos (C) e (CA) mantiveram com o pH baixo durante o armazenamento refrigerado nos intervalos de tempo e no final dos 30 dias foram observados um pH de 6,27 e 6,31 respectivamente. A amostra controle (C) demonstrou um aumento significativo em relação ao tempo 0 onde ao final do tempo 30, apresentou um pH de 6,95 e acordo com o (figura 05), segundo a pesquisa de FANG Z. (2018), nenhuma diferença foi observada para nas amostras de carne de porco recobertas com quitosana, sugerindo que a adição de ácido na solução de quitosana não afetou o pH dos lombos de porco armazenados durante 30 dias em uma temperatura de 4°C.

**Figura 05** - valores de pH da carne de carneiro durante o armazenamento a 4°C



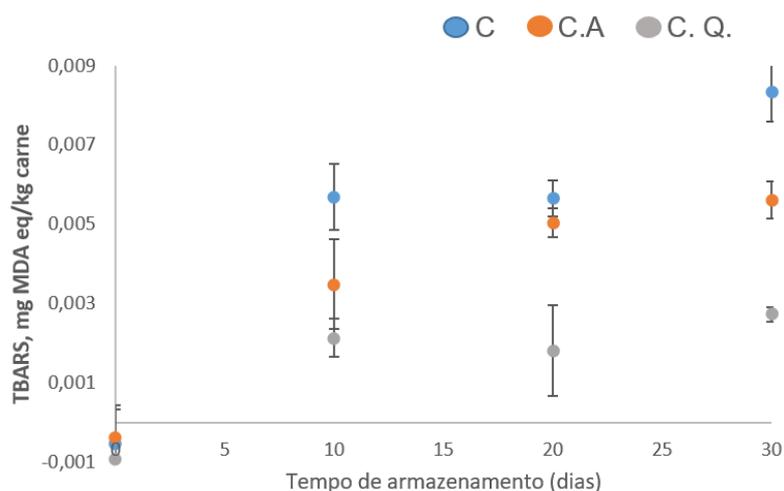
### **Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)**

Os lipídios nos alimentos sofrem deterioração devido à ação de enzimas hidrolíticas, a oxidação das amostras pelo contato com o oxigênio ou pela presença de microrganismos, tornando-os menos atrativos no decorrer do tempo (SANTOS, 2017). Um dos índices utilizados nas empresas alimentícias para avaliar a oxidação lipídica é o valor das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS (SOUZA et.al. 2011).

Os valores iniciais de TBARS foram maiores no controle (C) e no (CA) e os valores iniciais do tempo 0 se manteve nas carnes tratadas (C) como mostra a figura

06. Os valores de TBARS continuaram a aumentar e apresentaram valor máximo no dia 30 ( $0,003 \pm 0,01$  mg MDA eq/kg carne) em comparação com os valores 0,008 e 0,006 ( $0,003 \pm 0,01$  mg MDA eq/kg carne) obtidos (C) e (CA) respectivamente. De acordo com os dados obtidos por (SANTOS, 2017), os filés de tilápia apresentaram valores semelhantes até o 15º dia. No dia 30, o valor foi aumentado em relação ao grupo controle, assim como a cobertura comestível de quitosana apresentou efeito antioxidante semelhante, diminuindo a oxidação de lipídeos na carne de carneiro.

**Figura 06** - Efeitos da cobertura de quitosana na reação de TBARS em carne de carneiro armazenada a 4°C.

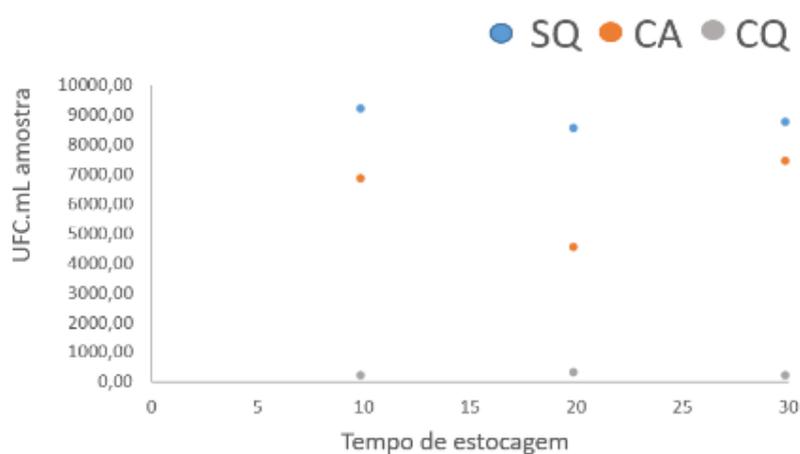


O revestimento de quitosana aplicado na carne de carneiro atua como uma barreira contra o contato do oxigênio do ambiente com a superfície do músculo, fazendo com que haja a diminuição da oxidação lipídica e na manutenção da qualidade e aparência da carne. Os resultados obtidos também estão de acordo com Sweetie, (2013), concluiu que em todos os produtos de carne, inicialmente não houve diferença significativa em TBARS entre amostras revestidas e não revestidas com quitosana. No entanto, após o armazenamento por refrigeração, os índices de TBARS aumentaram mais rapidamente em amostras não revestidas em comparação com amostras revestidas com quitosana e ainda de acordo com (Cardoso, 2016), A quitosana foi o fator que mais influenciou os valores de TBARS na carne bovina, tendo um efeito pró-oxidante, justificando o aumento inicial nos níveis de oxidação lipídica no tempo zero.

## MICROBIOLOGICO

De acordo com os resultados obtidos por Ferreira e Simm (2018), onde foram avaliadas as condições higiênico-sanitárias de carnes pré-moídas e moídas comercializadas, foi detectada a presença de bactérias em 16,67% das amostras onde as carnes eram obtidas na hora, mostrando a falta de higiene em algum momento de sua manipulação. Contudo este trabalho analisou a contagem de microrganismos psicrófilos e foi observado que houve variação significativa ao longo do período de estocagem de 10, 20 e 30, onde apresentou grupo (C) se mantiveram altos entre tempo 10 ( $9,1 \cdot 10^{-3}$  UFC.mL<sup>-1</sup>) e tempo 30 ( $8,7 \cdot 10^{-3}$  UFC.mL<sup>-1</sup>) dias de armazenamento, resultado também observado no grupo (CA) onde no tempo de 10 dias com ( $6,8 \cdot 10^{-3}$ UFC.mL<sup>-1</sup>) e tempo 30 dias com um crescimento de ( $7,3 \cdot 10^{-3}$  UFC.mL<sup>-1</sup>) , efeito não observado no grupo (CQ) que apresentou a inibição no crescimento microbiológico a partir tempo 10 ( $1,3 \cdot 10^{-2}$  UFC.mL<sup>-1</sup>) e se mantendo com o número de microrganismos baixo ( $1,6 \cdot 10^{-2}$  UFC.mL<sup>-1</sup>) final dos 30 dias de armazenamento (figura 07).

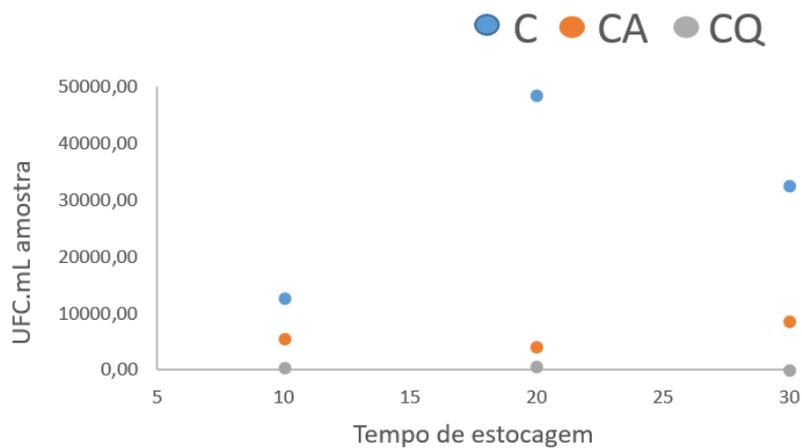
**Figura 07-** Efeitos da cobertura de quitosanasob bactérias psicrotrófico em carne de carneiro armazenada a 4°C.



Este trabalho mostrou que mesmo com as rigorosas técnicas de vigilância e controle de microrganismos, ainda ocorrem falhas durante a obtenção do produto assim observado no grupo controle (C) a presença acentuada de microrganismos em todos os tempos analisados, visto este o processamento da carne de carneiro requer inúmeras etapas na manipulação podendo haver contaminação em qual quer momento dessas etapas, foi visto que a aplicação da cobertura comestível de

quitosana no armazenamento final ajuda no controle dos microrganismos presentes carne diminuindo o risco a saúde do consumidor, uma vez que este microrganismo possui diferentes graus de patogenicidade.

**Figura 08** - Efeitos da cobertura de quitosanasob bactérias mesófilas (37°C) em carne de carneiro armazenada a 4°C.



## **CONCLUSÃO**

A aplicação da cobertura comestível de quitosana extraído da carapaça de camarão foi eficiente na manutenção da carne de carneiro estabilizando as características físico-químicas, mantendo o pH e diminuindo a oxidação lipídica, assim como manteve as características histológicas e histoquímica nos tempos analisados em comparação com os outros grupos, também foi observada a capacidade antimicrobiana da quitosana e uma diminuição no crescimento dos microrganismos.

## **AGRADECIMENTOS**

Silveira Junior, A. B. Agradece a CAPES do Brasil pela bolsa de estudos durante o trabalho, ao Centro de Biociências e ao Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco.

## REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução, Ministério da Saúde, RDC Nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos de alimentos**. Diário Oficial da União, Brasília, 2001. Disponível em :<<http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144&word=>>. Acesso em 18 maio 2018.

Alnoman, M., Udombijitkul, P., Sarker, M.R. **Chitosan inhibits enterotoxigenic Clostridium perfringens type A in growth medium and chicken meat**, Food Microbiology, 64, pp. 15-22; 2017.

Arkoun, M., Daigle, F., Holley, R.A., Heuzey, M.C., Ajji, A. **Chitosan-based nanofibers as bioactive meat packaging materials**, Packaging Technology and Science, 31 (4), pp. 185-195, 2018.

BEHMER, O.A., TOLOSA, E.M.C., FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: EDART – São Paulo Livraria Editora, Editora da Universidade de São Paulo, 1976. 241p

Cahú TB, Santos SD, Carolina AM, Córdula CR, Chavante SF, Carvalho LB JR, Nader HB, Bezerra RS, **Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste**. ProcessBiochem 47:570–577, 2012.

Cardoso, G.P., Dutra, M.P., Fontes, P.R., Ramos, A.D.L.S., Gomide, L.A.D.M., Ramos, E.M. **Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display**, Meat Science, 114, pp. 85-94; 2016.

Cardoso, G.P., Dutra, M.P., Fontes, P.R., Ramos, A.D.L.S., Gomide, L.A.D.M., Ramos, E.M., **Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display**, Meat Science, 114, pp. 85-94, 2016.

Dima, J.B., Sequeiros, C., Zaritzky, N.E. **Hexavalent chromium removal in contaminated water using reticulated chitosan micro/nanoparticles from seafood processing wastes**, Chemosphere, 141, pp. 100-111; 2015.

EyilerYilmaz, E., Vural, H., JafarzadehYadigari, R. **Thermal, microscopic, and quality properties of low-fat frankfurters and emulsions produced by addition of different hydrocolloids**, International Journal of Food Properties, 20 (9), pp. 1987-2002; 2017.

Fang, Z., Lin, D., Warner, R.D., Ha, M., **Effect of gallic acid/chitosan coating on fresh pork quality in modified atmosphere packaging**, Food Chemistry, 260, pp. 90-96. 2018

FERREIRA, R. S.; SIMM, E. M. **Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de Minas/MG**. SynThesis Revista Digital Fapam. Pará de Minas, n. 3, p. 37-61, abr. 2012. Disponível em: .Acesso em: 18 maio. 2018

Fisher, K.D., Bratcher, C.L., Jin, T.Z., Bilgili, S.F., Owsley, W.F., Wang, L. **Evaluation of a novel antimicrobial solution and its potential for control Escherichia coli O157: H7, non-O157: H7 shiga toxin-producing E. coli, Salmonella spp., and Listeria monocytogenes on beef**, Food Control, 64, pp. 196-201; 2016.

Gallaher D, Gallaher C, Mahrt G, Carr T, Hollingshead C, Hesslink R et al., **A glucomannan and chitosan fiber supplement decreases plasma cholesterol and increases cholesterol excretion in over weight normocholesterolemic humans**. J Am Coll Nutr 21(5):428–433, 2002.

Govari, M. & Pexara, A., **Nitrates and nitrites in meat products**, Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, 66 (3), pp.127–140. 2015.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). **“Relating Microbiological Criteria to Food Safety Objectives and Performance Objectives”**. van Schothorst, M., Zwietering, M., Ross, T., Buchanan B., Cole, M. Food Control, 20:967-979, 2009.

Jung, E.Y., Hur, S.J. **Development of Sausage with Inhibition of 60% Sodium Intake, Using Biopolymer Encapsulation Technology and Sodium Replacers**, Food and Bioprocess Technology, 11 (2), pp. 407-416; 2018.

Porcelli, S., Pugliese, L., Rejc, E., Pavei, G., Bonato, M., Montorsi, M., La Torre, A., Rasica, L., Marzorati, M., **Effects of a Short-Term High-Nitrate Diet on Exercise Performance**, Nutrients, 8 (9), pp.534–546. 2016.

Santos Fabio M.S.; Silva Ana I.M. ; Vieira Claudia B.; Araujo Mayra H.; Silva Andre L.C.; Cunha Maria G.C.; Souza Bartolomeu W.S.; Bezerra Ranilson S. **Use of chitosan coating in increasing the shelf life of liquid smoked Nile tilapia (Oreochromis niloticus) fillet**.Jornal Food Science Technol. 54(5):1304–1311, 2017.

Souza, E.L. **Sensory evaluation and inhibition of Listeria monocytogenes in bovine pâté added of chitosan from Mucor rouxii**, LWT - Food Science and Technology, 44 (2), pp. 588-591.2011.

Sweetie R. Kanatt, M.S. Rao, S.P. Chawla\*, Arun Sharma; **Effects of chitosan coating on shelf-life of ready-to-cook meat products during chilled storage**; Food Science and Technology; 321e326, 2013.

Zhang, H., He, P., Kang, H., Li, X. **Antioxidant and antimicrobial effects of edible coating based on chitosan and bamboo vinegar in ready to cook pork chops**, LWT, 93, pp. 470-476, 2018.