



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

**César Damian**

**EFEITO DA QUITOSANA NA  
DIGESTIBILIDADE APARENTE DA  
GORDURA E NA QUALIDADE DE  
SALSICHAS FRANKFURT**

**Tese de Doutorado**

**Florianópolis - SC**

**2005**

**CÉSAR DAMIAN**

**EFEITO DA QUITOSANA NA  
DIGESTIBILIDADE APARENTE DA  
GORDURA E NA QUALIDADE DE  
SALSICHAS FRANKFURT**

Tese apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação  
em Ciência dos Alimentos da  
Universidade Federal de Santa  
Catarina, como requisito final  
para obtenção do grau de  
Doutor em Ciência dos  
Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Evanilda Teixeira, Dr<sup>a</sup>.

**Florianópolis - SC**

**2005**

DAMIAN, César

Efeito da quitosana na digestibilidade aparente da gordura e na qualidade de salsichas Frankfurt. César Damian. Florianópolis, 2005.

155p.: Graf.; fig; 29 cm

Tese Doutorado – Universidade federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2005.

Orientador: Dra. Evanilda Teixeira (UFSC)

Banca Examinadora: Dra. Evanilda Teixeira, Dr. Milton Luiz Pinho Espírito Santo, Dr. Willy Arno Sommer, Dr. Rubem Abreu Machado, Dr. Honório Domingos Benedet.

Bibliografia

1. Quitosana. 2. Digestibilidade. 3. Salsichas

**EFEITO DA QUITOSANA NA  
DIGESTIBILIDADE APARENTE DA  
GORDURA E NA QUALIDADE DE  
SALSICHAS FRANKFURT**

Por

**César Damian**

**Tese aprovada como requisito final para obtenção do título de Doutor no  
Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos pela Comissão  
formada por:**

**Presidente:**

---

**Profa. Dra. Evanilda Teixeira (orientadora)**

**Membro:**

---

**Prof. Dr. Wladimir Padilha da Silva**

**Membro:**

---

**Prof. Dr. Milton Luiz Pinho Espírito Santo**

**Membro:**

---

**Prof. Dr. Willy Arno Sommer**

**Membro:**

---

**Prof. Dr. Rubem Abreu Machado**

**Suplente:**

---

**Prof. Dr. Honório Domingos Benedet**

**Coordenador:**

---

**Prof. Dr. Ernani Sebastião Sant'Anna**

À família, Raquel, Gabi e Bruno, a base de tudo.

## Agradecimentos

Aos meus pais, Valdir e Norma pelo carinho e formação.

A orientadora Profa. Dra. Evanilda Teixeira pelo apoio e amizade.

Aos amigos Dr. Luiz Henrique Beirão, Dr. Milton Luiz Pinho Espírito Santo, Dr. Pedro Manique Barreto, Dra. Jane Mara Block, Dra. Alicia de Francisco, Dr. Marcelo Maraschim, Luciano Gonzaga, Sergio de Souza, Márcia Menezes Nunes, Noel e Alexandre pelo apoio e incentivo.

A Profa. Adriana Cherem, Roseli, Talita e Márcia Reis Felipe do Laboratório de Nutrição Experimental – UNIVALI/SC.

Aos amigos e companheiros de curso, pela oportunidade da convivência.

A todos que colaboraram direta e indiretamente, na realização desse trabalho.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a digestibilidade aparente da gordura através de um ensaio biológico com 32 ratos, divididos em 4 grupos, durante 34 dias. O primeiro grupo foi alimentado com a dieta AIN-93M utilizada como controle (C), o segundo com uma dieta a base de salsicha contendo 5 % de celulose (SC), o terceiro com uma dieta a base de salsicha contendo 5 % de quitosana (SQ) e o quarto com uma dieta a base de salsicha contendo 5 % de quitosana pré-solubilizada em ácido láctico (SQA). Decorrido o tempo do experimento, a digestibilidade aparente da gordura foi de 92,24 % para a dieta controle, 80,86 % para SC, 61,43 % para SQ e 71,22% para SQA. Os ganhos de peso no período entre a segunda e quinta semana foram menores para os animais alimentados com as dietas SQA (44,75 g), SQ (46,43) e SC (48,25), quando comparados com aqueles alimentados com a dieta C, e estão provavelmente associados à absorção de gordura determinado na digestibilidade aparente da gordura. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio confirmaram o efeito redutor da quitosana na absorção de gordura ingerida. Não houve diferença no peso médio dos fígados e teores de colesterol total sérico dos animais. Os teores de LDL-colesterol foram menores nos animais submetidos às dietas C, SC e SQ, quando comparados a SQA. Com relação ao HDL-colesterol, os teores encontrados foram semelhantes para todas as dietas, e os triglicerídios apresentaram teores mais elevados para as dietas C e SQ em relação a SQA. Foram também avaliados os efeitos da adição de diferentes quantidades de quitosana (0,1; 0,25 e 0,5 %) na composição química, rendimento e perfil de textura instrumental e sensorial de salsichas frankfurt de baixo teor de gordura. Os resultados mostraram que a adição de quitosana nos percentuais utilizados não apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) sobre a composição química e o rendimento quando comparadas à salsicha controle. O perfil instrumental de textura das salsichas adicionadas de quitosana não apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para as características de adesividade, elasticidade e coesividade, entretanto houve diferenças significativas para os parâmetros dureza, gomosidade e mastigabilidade. Já o perfil de textura sensorial não mostrou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre a salsicha controle e as que continham quitosana em todas as propriedades sensoriais avaliadas. A matriz de correlação entre as variáveis instrumentais e sensoriais demonstrou que não houve correlação entre dureza sensorial e instrumental. O coeficiente de correlação sensorial mostrou alta correlação entre a elasticidade e gomosidade, e boa correlação entre dureza e fraturabilidade, adesividade e liberação de umidade.

**PALAVRAS CHAVE:** QUITOSANA, DIGESTIBILIDADE, SALSICHA

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the apparent digestibility of fat by means of biologic assays using 32 rats divided into 4 groups, and conducted for 34 days. The first group was fed with AIN-93M control diet (C), the second group had sausage based diet with 5 % cellulose (SC), the third a sausage based diet with 5 % chitosan (SQ) and the last one was sausage based diet with 5 % of chitosan solubilized in lactic acid (SQA). The results showed that apparent digestibility of fat was: 92.24 % for the control diet, (C) 80.86 % for SC, 61.43 % for SQ and 71.22 for SQA. The weight increase between the 2<sup>nd</sup> and fifth weeks was significantly lower for the animals on the SQA (44.25g), SQ (46.43g) and SC (48.25g) diets as compared to the control diet C, and this was probably related to the absorption of fat determined by the apparent digestibility. The <sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance (NMR) spectrums confirmed the reducing effect of chitosan on the absorption of the ingested fat. There were no differences in the mean weight of any of the rat's livers nor in their total blood cholesterol. The LDL-cholesterol fraction was lower for the animals on the C, SC and SQ diets, in relation to the SQA diet. HDL-cholesterol were similar for all diets, and the triglycerides were higher for control and SQ diets in relation to SQA. The effects of adding different quantities of chitosan (0,1; 0,25 e 0,5 %) on the chemical composition, yield, instrumental texture and sensory perfil analysis of low-fat Frankfurter sausage was also evaluated. Results indicated that the addition of chitosan at the suggested levels didn't show significant differences ( $p < 0,05$ ) on the chemical composition and on the yield in relation to the control sausage. The instrumental texture profiles of the sausages with added chitosan had no significant differences in adhesiveness, elasticity, and cohesiveness, however, there were significant differences for hardness, gumminess and chewiness. The sensory analysis profile did not showed any differences between the control and the chitosan containing samples according to the characteristics evaluated. The correlation matrix between instrumental and sensory analysis showed that there was no correlation between the instrumental and the sensory hardness. The sensory correlation coefficient showed a strong correlation between elasticity with gumminess, and a good correlation between hardness and with fracturability, adhesiveness e moisture loss.

KEY WORDS: CHITOSAN, DIGESTIBILITY, SAUSAGE

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b>   | <b>14</b> |
| <b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>  | <b>17</b> |
| 2.1 Alimentos funcionais  | 17        |
| 2.2 Quitina   | 22        |
| 2.3 Quitosana   | 27        |
| 2.3.1 Síntese e purificação   | 28        |
| 2.3.2 Solubilidade  | 30        |
| 2.3.3 Degradação térmica  | 32        |
| 2.3.4 Grau de desacetilação   | 33        |
| 2.3.5 Aplicações industriais  | 35        |
| 2.3.6 Efeitos no trato gastrintestinal  | 40        |
| 2.3.7 Atividade antimicrobiana  | 44        |
| 2.4 Carne e produtos cárneos  | 51        |
| 2.4.1 Processamento industrial  | 52        |
| 2.4.2 Gordura saturada em embutidos   | 59        |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>   | <b>64</b> |
| 3.1 Material  | 64        |
| 3.2 Métodos   | 66        |
| 3.2.1 Delineamento experimental dos ensaios biológicos  | 66        |
| 3.2.1.1 Produção das salsichas (base para formulação da rações)                               | 66        |
| 3.2.1.2 Ensaio biológico - Aplicação do experimento   | 69        |
| 3.2.1.3 Determinação dos ácidos graxos  | 69        |
| 3.2.1.4 Espectrometria de ressonância magnética nuclear de Hidrogênio – ( <sup>1</sup> H-RMN) | 71        |
| 3.2.2 Delineamento experimental para a produção das salsichas frankfurt                       | 72        |
| 3.2.2.1 Produção das salsichas com quitosana  | 73        |
| 3.2.2.2 Rendimento  | 74        |
| 3.2.2.3 Composição físico-química   | 74        |

|  |            |
|--|------------|
| <b>3.2.2.4 Avaliação instrumental da textura</b>   | <b>75</b>  |
| <b>3.2.2.5 Avaliação sensorial da textura</b>  | <b>75</b>  |
| <b>3.2.2.6 Análises microbiológicas</b>  | <b>76</b>  |
| <b>3.2.2.6.1 Amostragem</b>  | <b>77</b>  |
| <b>3.2.2.6.2 Determinação de coliformes a 45°C</b>   | <b>77</b>  |
| <b>3.2.2.6.3 Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo</b>                            | <b>78</b>  |
| <b>3.2.2.6.4 Detecção de <i>Salmonella</i> spp.</b>  | <b>78</b>  |
| <b>3.2.2.6.5 Contagem de clostrídios sulfito redutores</b>                                       | <b>79</b>  |
| <b>3.2.3 Análise estatística</b>   | <b>80</b>  |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>  | <b>81</b>  |
| <b>4.1 Ensaio biológico</b>  | <b>81</b>  |
| <b>4.1.1 Consumo alimentar e ganho de peso</b>   | <b>81</b>  |
| <b>4.1.2 Digestibilidade aparente da gordura</b>   | <b>86</b>  |
| <b>4.1.3 Peso do fígado</b>  | <b>86</b>  |
| <b>4.1.4 Perfil de ácidos graxos</b>   | <b>89</b>  |
| <b>4.1.5 Níveis plasmáticos de colesterol, LDL, HDL e triglicerídios</b>                         | <b>92</b>  |
| <b>4.1.6 Espectrometria de ressonância magnética nuclear de Hidrogênio – (<sup>1</sup>H-RMN)</b> | <b>95</b>  |
| <b>4.2 Avaliação das salsichas elaboradas com quitosana</b>                                      | <b>95</b>  |
| <b>4.2.1 Avaliação microbiológica</b>  | <b>95</b>  |
| <b>4.2.2 Avaliação físico-química</b>  | <b>99</b>  |
| <b>4.2.3 Avaliação instrumental da textura</b>   | <b>100</b> |
| <b>4.2.4 Avaliação sensorial da textura</b>  | <b>103</b> |
| <b>5 CONCLUSÕES</b>  | <b>108</b> |
| <b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>   | <b>110</b> |
| <b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>  | <b>111</b> |
| <b>8 ANEXOS</b>  | <b>121</b> |
| <b>9 APÊNDICES</b>   | <b>129</b> |

## LISTA DE TABELAS

|                  |   |           |
|------------------|---|-----------|
| <b>Tabela 1</b>  | <b>Conteúdo de quitina em crustáceos</b>  | <b>23</b> |
| <b>Tabela 2</b>  | <b>Condições de desmineralização da quitina</b>   | <b>24</b> |
| <b>Tabela 3</b>  | <b>Condições para a desproteínização da quitina</b>   | <b>25</b> |
| <b>Tabela 4</b>  | <b>Solventes utilizados para a despigmentação da quitina</b>  | <b>26</b> |
| <b>Tabela 5</b>  | <b>Efeito antimicrobiano da quitosana sobre a <i>E. coli</i></b>  | <b>50</b> |
| <b>Tabela 6</b>  | <b>Efeito antimicrobiano da quitosana sobre <i>Staphylococcus aureus</i></b>  | <b>50</b> |
| <b>Tabela 7</b>  | <b>Ação dos fosfatos na carne bovina</b>  | <b>54</b> |
| <b>Tabela 8</b>  | <b>Formulação da massa de salsicha Frankfurt utilizada no ensaio biológico</b>  | <b>65</b> |
| <b>Tabela 9</b>  | <b>Dieta AIN – 93M para manutenção de roedores adultos</b>  | <b>65</b> |
| <b>Tabela 10</b> | <b>Formulação das amostras da massa de salsicha (base) utilizadas para as análises do perfil de textura instrumental (TPA), perfil de textura sensorial, análises microbiológicas e físico-químicas</b> | <b>73</b> |
| <b>Tabela 11</b> | <b>Consumo alimentar diário por grupo de animais nas diferentes dietas</b>  | <b>81</b> |
| <b>Tabela 12</b> | <b>Peso médio dos animais submetidos às diferentes dietas durante 34 dias de experimento</b>  | <b>83</b> |
| <b>Tabela 13</b> | <b>Digestibilidade aparente da gordura (%) nas dietas nos diferentes períodos estudados</b>   | <b>86</b> |
| <b>Tabela 14</b> | <b>Ácidos graxos saturados e insaturados nas dietas e excretados</b>  | <b>89</b> |
| <b>Tabela 15</b> | <b>Perfil de ácidos graxos nas dietas e excretados</b>  | <b>91</b> |
| <b>Tabela 16</b> | <b>Níveis plasmáticos de colesterol, frações e triglicerídios nos períodos inicial (T = 0), intermediário (T = 17) e final (T = 34) do ensaio biológico</b>   | <b>93</b> |
| <b>Tabela 17</b> | <b>Avaliação microbiológica das amostras das salsichas frankfurt produzidas com diferentes percentuais de quitosana</b>   | <b>96</b> |

|                  |  |            |
|------------------|--|------------|
| <b>Tabela 18</b> | <b>Composição físico-química das amostras das salsichas frankfurt de baixo teor de gordura e com diferentes percentuais de quitosana</b>   | <b>99</b>  |
| <b>Tabela 19</b> | <b>Teste de Tukey aplicado aos valores médios <math>\pm</math> desvio padrão obtido para os parâmetros do perfil de textura (TPA) de amostras da salsicha controle (C) e com diferentes percentuais de quitosana</b>     | <b>101</b> |
| <b>Tabela 20</b> | <b>Teste de Dunnett aplicado aos valores médios <math>\pm</math> desvio padrão obtidos para os parâmetros do perfil de textura (TPA) das amostras da salsicha controle (C) e com diferentes percentuais de quitosana</b> | <b>102</b> |
| <b>Tabela 21</b> | <b>Valores médios obtidos para os parâmetros do perfil de textura sensorial das amostras da salsicha controle (C) e com diferentes percentuais de quitosana</b>  | <b>104</b> |
| <b>Tabela 22</b> | <b>Matriz de correlação dos atributos de textura sensorial e instrumental de salsichas frankfurt com baixo teor de gordura e adição de diferentes percentuais de quitosana</b>   | <b>106</b> |

## LISTA DE FIGURAS

|                 |  |            |
|-----------------|--|------------|
| <b>Figura 1</b> | <b>Reações de oxi-redução de nitratos e nitritos em carne</b>  | <b>53</b>  |
| <b>Figura 2</b> | <b>Derivatização dos ácidos graxos</b>   | <b>70</b>  |
| <b>Figura 3</b> | <b>Consumo alimentar diário por grupo de animais nas diferentes dietas durante o experimento</b>                                   | <b>82</b>  |
| <b>Figura 4</b> | <b>Ganho de peso dos animais entre a 1ª e a 5ª semana do ensaio biológico</b>  | <b>84</b>  |
| <b>Figura 5</b> | <b>Ganho de peso dos animais entre a 2ª e a 5ª semana do ensaio biológico</b>  | <b>85</b>  |
| <b>Figura 6</b> | <b>Digestibilidade aparente da gordura (%) nas diferentes fases do ensaio biológico</b>  | <b>87</b>  |
| <b>Figura 7</b> | <b>Perfil de textura instrumental em amostras da salsicha controle (C) e com diferentes percentuais de quitosana (Q1, Q2 e Q3)</b> | <b>103</b> |
| <b>Figura 8</b> | <b>Perfil de textura descritivo em amostras da salsicha controle (C) e com diferentes percentuais de quitosana (Q1, Q2 e Q3)</b>   | <b>105</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos 30 anos a incidência de sobrepeso e obesidade tem aumentado drasticamente entre crianças e adultos causando significativa adversidade à saúde e conseqüências econômicas. É considerado um problema de saúde pública, uma vez que sua incidência vem aumentando de forma alarmante. A epidemia de obesidade e seus problemas associados à saúde, não estão restritos aos Estados Unidos da América, pois está aumentando em proporções epidêmicas em países ocidentais e subdesenvolvidos ao redor do mundo. O consenso latino-americano sobre obesidade prevê que, na América Latina, 200.000 pessoas por ano não sobrevivam a doenças crônicas relacionadas com a obesidade.

No Brasil houve um incremento do sobrepeso e obesidade de 53 % e, segundo a Federação Latino-Americana de Sociedades de Obesidade - FLASO, o Brasil apresenta um índice de obesidade e excesso de peso em torno de 40 % da população. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, as crianças obesas representavam em 1998 cerca de 13,9 % da população de uma faixa-etária entre 6 e 9 anos, porém, as pesquisas recentes revelam um incremento de 50 % neste percentual.

O crescimento epidêmico é predominantemente maior nas classes menos favorecidas. A obesidade leve (sobrepeso entre 10 e 25 %) acarreta aumentos de risco para a morte prematura, diabetes, hipertensão, arteriosclerose e certos tipos de cânceres, estando associadas a 44 diferentes doenças. Em função das conseqüências à saúde, a prevenção e o tratamento do sobrepeso e obesidade, seriam de grande interesse da população. Os alimentos com baixo teor de gordura e calorias foram inicialmente introduzidos

para fornecer dietas específicas para diabéticos e indivíduos com problemas médicos específicos, semelhantes à obesidade e doenças do coração.

A produção de alimentos de menor valor calórico inclui produtos cárneos com reduzidos teores de gordura. O teor de gordura destes produtos, como salsichas e mortadelas, apresenta propriedades funcionais específicas capaz de interferir nas características sensoriais relacionadas com o sabor e a textura. A redução da gordura para níveis inferiores a 10 %, ou mesmo, a substituição da gordura animal por óleos vegetais, tem sido objeto de intensos estudos para obtenção de produtos cárneos com baixo valor calórico e reduzidos níveis de gordura saturada com menor influência nas características organolépticas. A Organização Mundial da Saúde - WHO recomenda que, a gordura deveria fornecer entre 15 e 30 % das calorias da dieta e, que, a gordura saturada não deveria fornecer mais do que 10 % destas calorias e que, a ingestão de colesterol deveria ser limitada a 300 mg/dia. Portanto, é necessário alterar as formulações dos produtos cominutados que possuem elevado teor de gordura saturada (40 %) para poder atender a crescente procura por alimentos mais saudáveis.

A quitosana é usada como suplemento ou ingrediente alimentar para reduzir a absorção de lipídios e também no tratamento e prevenção da obesidade, doenças coronarianas e certas desordens intestinais. Esse polímero, livre ou na forma de complexos ácidos de gorduras pode ser incorporado aos alimentos ou em preparações farmacêuticas. É capaz de ligar-se com lipídios, prevenindo a digestão e absorção destes compostos e promovendo sua excreção.

A demanda por produtos cárneos de baixo valor calórico e reduzido teor de gordura vem crescendo dia-a-dia. As indústrias processadoras de carne têm

procurado desenvolver produtos com baixo teor de gordura a características sensoriais igualmente prazerosas, visando conquistar esta forma esta valiosa fatia do mercado.

Dentro deste contexto, os objetivos deste trabalho foram:

#### GERAL

- Verificar a influência da adição de quitosana em salsichas tipo frankfurt, sobre a digestão aparente da gordura, através de ensaio biológico.

#### ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da adição de diferentes percentuais de quitosana sobre as propriedades texturiais (instrumental e sensorial); físico-químicas e microbiológicas em salsichas tipo frankfurter com baixo teor de gordura.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Alimentos funcionais

O excesso de gordura corporal é atualmente considerado importante fator de risco para a saúde e, mais especificamente, às doenças cardiovasculares. Isto porque, além de predispor a várias doenças crônico-degenerativas, assume proporções epidêmicas em alguns países e crescimento rápido e progressivo em outros (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 1998).

Guimarães (2001) apresenta dados da Organização Mundial de Saúde – OMS, que incluem 96 países, mostram uma prevalência global de obesidade de 8,2 % contra 5,8 % de subnutrição, com diferenças proporcionais marcantes, de acordo com estágio de desenvolvimento econômico dos países. Assim, a prevalência de obesidade varia de 1,8 % nos países mais pobres a 17,1 % nas economias em transição, entre as quais se situa o Brasil e, até 20,4 % nas economias mais desenvolvidas, como os Estados Unidos da América, país que lidera os índices de prevalência de sobrepeso e obesidade. Mais da metade dos americanos (57,3 milhões) acima de 20 anos apresenta sobrepeso (77,7 %) e obesidade (22,3 %), correspondendo a 39,8 milhões; a taxa de sobrepeso é maior entre os homens (39,9 %) e a de obesos, entre as mulheres (57,8 %).

Nos últimos trinta anos, a incidência de crianças e adultos obesos aumentou drasticamente nas nações industrializadas, causando significantes conseqüências físicas e econômicas (MERMEL, 2004).

De acordo com o National Institute of Health (1998), a obesidade é uma complexa condição resultante de uma mistura de fatores psicológicos, ambientais e fisiológicos.

Alguns índices mencionados por Guimarães (2001) diferem dos pesquisados por outros autores a exemplo de Cotta (2004), quando especifica que 60 % dos norte-americanos têm problemas com o excesso de peso, mais de 30 % são obesos e, o Brasil segue o mesmo caminho. Assim que, 10 a 15 % dos brasileiros são obesos e destes, 5 a 6 % obesos mórbidos. Isto significa que de 1,5 a 2 milhões de pessoas estão na faixa da obesidade mórbida. Em matéria de obesidade, o país nos próximos anos, pode acompanhar os Estados Unidos. Ou seja, estima-se que na próxima década cerca de 60 % da população brasileira estará mais pesada do que deveria. Um dos motivos seria a alimentação inadequada, o *fast-food*, pela comodidade e modismo (COTTA, 2004).

A Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição – CGPAN/MS (2004) preconiza que a adequação nutricional é uma das necessidades básicas de saúde para os adolescentes poderem desenvolver todo o seu potencial biológico associado ao crescimento e desenvolvimento. O excesso de peso corporal em particular a obesidade, tem sido reconhecida como um problema brasileiro, acarretando prejuízos à saúde, que incluem desde dificuldades respiratórias, problemas dermatológicos, do aparelho locomotor, até o favorecimento de enfermidades potencialmente letais, as cardiovasculares, diabetes não-insulino dependente e certos tipos de cânceres.

Conforme Barros (2004), diversos endocrinologistas mencionam a existência acentuada de crianças obesas no Brasil. Elas representavam em 1998 cerca de 13,9 % da população de faixa-etária entre 6 e 9 anos, porém pesquisas recentes revelam um aumento, ainda não oficial, de 50 % neste percentual. O aumento do número de crianças obesas é visto por organismos internacionais como uma espécie de epidemia, verificada principalmente em países mais populosos, como Estados Unidos, Rússia, China e Brasil.

Tratar a obesidade infantil requer mudanças de hábitos alimentares, inclusão de exercícios na rotina da criança e dietas balanceadas. O uso de fitoterápicos para o controle de peso de crianças e adolescentes pode ser feito com os princípios ativos da garcínia, que promovem a perda de peso através da inibição da lipogênese e redução da formação de tecido adiposo (BARROS, 2004). Ainda segundo este mesmo autor, outro componente coadjuvante utilizado neste sentido é o cromo, pois é um metal fundamental para o metabolismo do açúcar no organismo e o aminoácido carnitina, importante oxidante de gorduras com propriedades termogênicas, que auxilia na queima de tecido adiposo. Também o ácido lipóico é uma substância que atua como fonte antioxidante por agir na fluidez das membranas das células melhorando assim o aproveitamento da glicose sangüínea e auxiliando na perda de peso (BARROS, 2004).

De acordo com Walzem (2004), as pesquisas têm mostrado de forma repetitiva que, a dieta é um dos fatores mais significativos que influenciam o risco e a gravidade da maioria das doenças associadas a distúrbios metabólicos. Os mecanismos associados a esses efeitos iniciam ou promovem as doenças como o câncer, obesidade, diabetes e osteoporose. Estrategicamente, a prevenção destas doenças é obtida através de mudanças

de hábitos ao longo de um determinado tempo e, isto inclui exercícios físicos, observação de princípios higiênicos, eliminação do hábito de fumar e mudanças na dieta. Os alimentos funcionais apresentam propriedades nutricionais em combinação com componentes moleculares biologicamente ativos que previnem os distúrbios metabólicos causadores de morte ou doenças crônicas. Entretanto, para que o agente tenha efeito na prevenção da doença, são necessárias medidas criteriosas na formulação do alimento que deve ser específica para cada tipo de consumidor. Há necessidade de se realizar o acompanhamento durante todo o processo de consumo avaliando seus resultados.

Na avaliação desta complexa situação, há uma grande tendência para o desenvolvimento de produtos “saudáveis”. Esses produtos devem possuir, no mínimo, uma das seguintes características: composição modificada ou condições de processamento que previnam ou limitem a presença de certos componentes potencialmente nocivos e/ou a possibilidade de inclusão de certas substâncias com subseqüentes benefícios associados à saúde humana. O conceito de “produtos saudáveis” é conhecido como alimentos funcionais. São definidos como alimentos utilizados na prevenção e tratamento de determinadas doenças ou distúrbios metabólicos (COFRADES; JIMÉNEZ-COLMENERO; CABALLO, 2001; MERMEL, 2004).

Na União Européia, embora as alegações de propriedades funcionais estejam proibidas, existe um projeto de revisão das leis relacionadas aos alimentos como um todo. Paralelamente, para cada país da comunidade, tais como Bélgica, Holanda, Reino Unido e Suécia, foram elaboradas normas próprias baseadas em consensos entre os cientistas, autoridades governamentais e indústrias (WATKINS e GERMAN, 2004).

No Brasil, a regulamentação é feita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (1999) com publicação de duas resoluções, nº 18 e 19 em 30 de abril de 1999 que aprovam o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e de saúde alegadas em rotulagem de alimentos e o registro de alimentos com alegação de propriedades funcionais e de saúde em sua rotulagem (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 1999).

Atualmente existem cinco segmentos de mercado onde encontrar alimentos funcionais; bebidas, produtos lácteos, produtos de confeitaria, produtos de panificação e cereais matinais. Os principais fatores que garantirão este desenvolvimento futuro serão: a qualidade do produto, segurança a respeito da procedência e qualidade do alimento, ética e conservação ambiental. Embora alimentos funcionais e orgânicos sejam igualmente de qualidade reconhecidamente superior, é importante mencionar que as propriedades funcionais de um alimento nada têm a ver com o seu sistema de produção. A determinação da segurança de um ingrediente funcional engloba muitos elementos. Estes elementos incluem análise de composição, estrutura, análises toxicidade, histórico da evolução deste ingrediente, estudos em animais, estudos clínicos epidemiológicos, e avaliação de considerações especiais semelhante à adversidade como alimento ou interações com drogas (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 1999; BELL e GOODRICK, 2002; KRUGER e MANN, 2003).

## 2.2 Quitina

A celulose é o polissacarídeo mais abundante produzido pela fotossíntese das plantas, enquanto que a quitina é a segunda fonte de biomassa, podendo ser produzida por uma variedade de animais marinhos, insetos e fungos (MATHUR e NARANG, 1990). Compondo o exoesqueleto dos crustáceos aquáticos e insetos, bem como a parede celular de leveduras e fungos, a quitina é considerada uma poliamina acetilada, biodegradável e atóxica (KARLSEN, 1991). Cerca de 50 a 80 % da composição orgânica das cascas de crustáceos e da cutícula de insetos consiste de quitina, enquanto que, nas leveduras e fungos, a quantidade está na faixa entre 30 a 60 % (PETER, 1995).

A quitina é um polissacarídeo natural, com características similares a glicosaminas. Apresenta uma estrutura similar a celulose, na qual os grupos hidroxilas referentes ao carbono-2 são substituídos por resíduos acetamínicos e, por essa razão assemelha-se a esta em muitas de suas aplicações. Sua estrutura foi estabelecida por volta de 1930 com base em sua hidrólise química e enzimática (CHANDY e SHARMA, 1993; HUGUET; GROBOILLOT; NEUFELD, 1994).

Três modificações estruturais são conhecidas, as quais diferem na orientação das cadeias do polissacarídeo, chamadas de  $\alpha$  - (antiparalela),  $\beta$  - (duas paralelas e uma antiparalela) e  $\gamma$  - (orientação ao acaso). A forma mais abundante é a  $\alpha$ -quitina. Devido a sua estrutura complexa, é menos atacada pelos reagentes químicos que a celulose, ou seja, é quimicamente mais estável. Este polímero é um sólido cristalino insolúvel em água, solventes orgânicos, ácidos diluídos e em álcalis. Pode ser dissolvida em ácidos

concentrados com simultânea degradação do polímero. Por processo de desacetilação, a quitina dá origem a quitosana. Algumas nomenclaturas não mostram diferenciação entre quitina e quitosana e, o termo “quitosana” usualmente representa o copolímero 2-amino2-desoxi-D-glucopiranosose e 2-acetamida-2-desoxi-D-glucopiranosose quando o grau de desacetilação é geralmente superior a 60 % (MATHUR e NARANG, 1990). As principais fontes de quitina em crustáceos são apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1- Conteúdo de quitina em crustáceos.**

| <b>FONTE</b>                    | <b>QUITINA (%)</b> |
|---------------------------------|--------------------|
| <b>Siri</b>                     |                    |
| <i>Callinectes sapidus</i>      | 13,0 – 15,0        |
| <i>Chinonecetes opilio</i>      | 26,6               |
| <i>Portunus trituberculatus</i> | 17,1               |
| <b>Camarão</b>                  |                    |
| <i>Penaeus monodon</i>          |                    |
| - (Carapaça)                    | 34,9               |
| - (Casca)                       | 36,5               |
| <i>Pandalus borealis</i>        | 30,0               |
| <i>Penaeus sp.</i>              |                    |
| - (Cabeça)                      | 11,9               |
| - (Casca)                       | 27,2               |
| <b>Krill</b>                    |                    |
| <i>Euphasia superba</i>         | 24                 |

Fonte : Mathur e Narang, 1990.

A tabela 2 mostra a desmineralização da quitina com ácido clorídrico diluído á temperatura ambiente seguido por lavagem com água até neutralização.

**Tabela 2 - Condições de desmineralização da quitina.**

| Fonte   | Concentração de HCl | Temperatura (°C) | Tempo (horas) | (p/v)   |
|---------|---------------------|------------------|---------------|---------|
| Lagosta | 37 %                | -20              | 4             |         |
|         | 90 % ác. fórmico    | Ambiente         | 18            | 1:10    |
|         | 1 N                 | Ambiente         | 2             | 1:15    |
| Krill   | 0,6 N               | Ambiente         | 2             | 1:22    |
|         | 3,50 %              | 20               | 1.5           | 1:04    |
|         | 22 %                | Ambiente         | 2             | 1:10    |
|         | 2 N                 | 15-25            | 0.5           | 1:25    |
| Camarão | 0.5N                | Ambiente         | -             | 1:11    |
|         | 5 %                 | Ambiente         | -             |         |
|         | 8 %                 | 30               | 8             | 1:10    |
|         | 0,75 N              | Ambiente         | 0.5           | 1:12    |
|         | 1,25 N              | Ambiente         | 0.5           | 1:12    |
|         | 1,75 N ác. acético  | 25               | 12            | 1:15    |
|         | 6 N                 | Ambiente         | 1             |         |
| Pitu    | 5%                  | Ambiente         | 2             | 1:15-20 |
|         | 5,00 %              | Ambiente         | 1             | 1:02    |
|         | 1 %                 | Ambiente         | 2             | 1:15    |
| Siri    | 1 N                 | Ambiente         | 12x2*         | -       |
|         | 2,50 %              | 20               | 1             | 1:10    |
|         | 1 N                 | 20               | 3             | -       |
|         | 5 %                 | Ambiente         | 24            | -       |
|         | 0.1 N               | Ambiente         | -             | Excesso |
|         | 1N                  | Ambiente         | 0.5           | 1:15    |

\* Quantidade de repetições dos tratamentos alcalinos, p/v: peso por volume. N = normalidade

Fonte: Mathur e Marang, 1990.

Para a obtenção da quitina bruta, o exoesqueleto dos crustáceos é desproteínizado com hidróxido de sódio diluído, como pode ser visto na tabela 3.

**Tabela 3 - Condições para a desproteínização da quitina.**

| Fonte   | Concentração alcalina |      | Temperatura (°C) | Tempo (horas) | (p/v) |
|---------|-----------------------|------|------------------|---------------|-------|
| Lagosta | 1 N                   | NaOH | 100              | 12x5*         | 1:5.5 |
|         | 10 %                  | NaOH | 100              | 2.5           | 1:5   |
|         | 15 %                  | NaOH | 65               | 3             | 1:1   |
| Krill   | 3,5 %                 | NaOH | 90-95            | 2             | 1:1   |
|         | 4 %                   | NaOH | 98               | 2.5           | 1:25  |
|         | 3 %                   | KOH  | 95               | 2             | 1:1   |
| Camarão | 3 %                   | NaOH | 100              | 1             | -     |
|         | 1 %                   | NaOH | 65               | 1             | 1:1   |
|         | 1 %                   | KOH  | 90               | 2             | 1:2   |
|         | 4 %                   | NaOH | 100              | 1             | 1:3   |
|         | 1N                    | NaOH | 100              | 1             | 1:6   |
|         | 5N                    | NaOH | 100              | 1             | -     |
| Pitu    | 5 %                   | NaOH | 100              | 0.5           | 1:1   |
|         | 0,5 %                 | NaOH | 100              | 0.5           | 2:3   |
|         | 15 %                  | NaOH | 65               | 3             | 1:1   |
| Siri    | 1N                    | NaOH | 80               | 3x2*          | -     |
|         | 2 %                   | KOH  | 90               | 2             | 1:2   |
|         | 1N                    | NaOH | 50               | 6             | -     |
|         | 5%                    | NaOH | 90               | 2             | -     |
|         | 1N                    | NaOH | 50               | 5             | -     |
|         | 5 %                   | NaOH | 65               | 1             | 1:15  |

\* Quantidade de repetições dos tratamentos alcalinos.

p/v: peso por volume. N = normalidade

Fonte: Mathur e Marang, 1990.

Os pigmentos, como os carotenóides, podem ser extraídos com solventes orgânicos como mostra a tabela 4 (PETER, 1995).

**Tabela 4 - Solventes utilizados para a despigmentação da quitina.**

| Fonte   | Reagente                            | Temperatura (°C) | Tempo (minutos) | (p/v)   |
|---------|-------------------------------------|------------------|-----------------|---------|
| Lagosta | Etanol+éter                         | Ambiente         | -               | -       |
|         | NaOCl                               | Resfriado        | -               | -       |
|         | Acetona+NaOCl                       | Ambiente         | 15              | 1:10    |
| Krill   | Clorofórmio                         | -                | -               | -       |
|         | Acetato etílico                     | 30               | 30              | 1:04    |
|         | Acetona                             | -                | -               | -       |
| Camarão | Acetona                             | -                | -               | -       |
|         | 1 % K <sub>2</sub> MNO <sub>4</sub> | Ambiente         | 60              | -       |
| Pitu    | Acetona                             | -                | 45              | 1:15-20 |
|         | 0,5 % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Ambiente         | -               | -       |
|         | NaOCl                               | Resfriado        | 30              | -       |
|         | Acetona+NaOCl                       | Ambiente         | 15              | 1:10    |
| Siri    | Acetona                             | -                | -               | -       |
|         | Acetona                             | -                | -               | -       |
|         | 3 % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>   | -                | -               | -       |
|         | 3 % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>   | 60               | 120             | -       |
|         | 0,32 % NaOCl                        | Ambiente         | 3               | 1:10    |

Fonte: Mathur e Marang, 1990.

A viabilidade econômica das indústrias que produzem quitina e quitosana a partir de cascas de crustáceos está diretamente relacionada com a abundância e baixo custo do resíduo. Nos países produtores, a matéria-prima é fornecida pelas indústrias que produzem alimentos processados. Nos países de terceiro mundo, esses resíduos não são economicamente aproveitados, acarretando problemas de poluição (MUZZARELLI; IIARI; PETRARULO, 1994; MUZZARELLI, 1996).

### 2.3 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo derivado da quitina, e tem sido tradicionalmente usada no Oriente para o tratamento de queimaduras e cicatrização de feridas (CHANDY e SHARMA, 1993). A quitosana foi isolada em 1859, pelo aquecimento da quitina em solução concentrada de KOH, resultando na sua desacetilação (FREEPONS, 1986).

A quitosana apresenta em maior proporção, na cadeia polimérica, unidades de  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-desóxi-D-glicose e, um menor número de unidades de  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-desóxi-D-glicose da quitina. Possui semelhança na sua estrutura química com a celulose, porém exibe propriedades diferenciadas devido a presença dos grupos amínicos. Pode ser encontrada naturalmente na parede dos fungos, especialmente em espécies do gênero *Mucor*. A maior fonte disponível de quitosana é a partir da desacetilação da quitina (PETER, 1995).

Embora a estrutura da quitosana seja representada como um homopolímero, a operação de desacetilação é raramente completa e a maioria dos produtos comerciais é de copolímeros compostos por unidades repetidas de quitosana e quitina alternadamente (CHANDY e SHARMA, 1993; VARMA; DESHPANDE; KENNEDY, 2004).

Os maiores produtores de quitina e quitosana (Estados Unidos e Japão) têm aumentado nos últimos anos a produção desses polímeros naturais, em consequência do aumento da sua utilização nas diferentes aplicações, principalmente na indústria de alimentos, quelação de metais e produção de membranas simétricas para separação de gases (EIDEM, 1980).

Suas propriedades específicas se caracterizam por possuírem grupos amínicos livres, pela solubilidade em soluções ácidas, insolubilidade em pH superior a 6,5, insolubilidade em  $H_2SO_4$ , baixa solubilidade em  $H_3PO_4$ , insolubilidade em solventes orgânicos e grupos amínicos protonados ( $-NH_3^+$ ), solubilidade em pH inferior a 6,5, capacidade de formarem soluções viscosas com formação de geleificação com poliânions e de se solubilizarem em misturas de água e álcool (MUZZARELLI e ROCCHETTI, 1986).

### **2.3.1 Síntese e purificação**

A quitosana, polímero constituído por unidades de  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-desóxi-D-glicopirano, foi sintetizada a partir da reação de hidrólise básica da quitina (KUMAR, 2000). O método mais comum está baseado na utilização da quitina pré-purificada, imersa em solução de NaOH 50 % (p/v) na proporção de 1:4 (p/v) com agitação mecânica e aquecimento a 80°C por 3 horas, resfriada por 12 horas, filtrada, novamente tratada com NaOH a 50 % (p/v), aquecida e agitada por 3 horas, resfriada por 12 horas, filtrada, lavada e seca em estufa a 60°C (MUZZARELLI et al., 1989).

A massa molecular da quitina é geralmente maior que  $1 \times 10^6$  Dalton enquanto que a da quitosana comercial atinge  $1 \times 10^5$  a  $12 \times 10^6$  Dalton. Entretanto, durante a produção condições severas como altas temperaturas, oxigênio dissolvido e pressão, podem conduzir à degradação da quitosana segundo Muzzarelli et al., 1982, desconfigurando a estrutura molecular e, por conseguinte, a massa molecular. A massa molecular da quitosana pode ser determinada por cromatografia líquida ou

viscosimetria. Esta última é o método mais simples e rápido para a determinação da massa molecular embora esta metodologia não esteja sempre relacionada com sua viscosidade devido à presença de partículas coloidais.

O método viscosimétrico é, entretanto, amplamente utilizado para a determinação da massa molecular relativa. A viscosidade da quitosana em dispersão é influenciada por muitos fatores, tais como: grau de desacetilação do polímero, peso molecular, concentração, força iônica, pH e temperatura. Geralmente com o aumento da temperatura, a viscosidade da dispersão polimérica diminui. Contudo, a mudança do pH na dispersão polimérica pode levar a diferentes resultados, dependendo do tipo de ácido empregado. Com ácido acético, a viscosidade da quitosana tende a aumentar com a diminuição do pH, enquanto que, com HCl, a viscosidade diminui (LI et al., 1997).

A quitosana comporta-se como um polieletrólito catiônico moderadamente básico ( $pK_a = 6,3$ ) formando sais com ácidos. Isto é definitivamente uma vantagem em comparação com a celulose, a qual, para exibir propriedades de troca iônica precisa ser convertida quimicamente em derivados contendo agrupamentos químicos apropriados. Além disso, a presença de grupos amínicos primários na quitosana oferece maiores possibilidades de modificações, tais como N-acilação e N-alquilação. A quitina e a quitosana são comercialmente importantes devido a sua alta porcentagem de nitrogênio (6,89 %) se comparada com a celulose substituída sinteticamente (1,25 %) (PETER, 1995; VARMA, 2004).

### 2.3.2 Solubilidade

A quitosana é insolúvel em água, em solventes orgânicos e em bases, mas é solúvel na maioria das soluções de ácidos orgânicos com pH inferior a 6. O ácido acético e o fórmico são os mais usados para a solubilização da quitosana. Alguns ácidos inorgânicos diluídos, tais como: ácido nítrico, clorídrico, perclórico e fosfórico, também podem ser usados para a preparar uma dispersão de quitosana, mas somente após prolongada agitação e aquecimento. Misturas como dimetilformamida com tetróxido de dinitrogênio numa proporção de 3:1 também podem ser utilizados como solventes. Quitosanas com um grau de desacetilação (50 %), são solúveis em água quando obtidas em condições homogêneas e insolúveis quando obtidas em condições heterogêneas. Esse efeito na sua solubilidade é provavelmente devido à diferença na estrutura do polímero, causado por diferentes condições de reação. A quitosana obtida por hidrólise homogênea apresenta uma estrutura com unidades de N-acetil-D-glucosamina e D-glucosamina distribuídas ao acaso na cadeia polimérica. Entretanto, o produto da hidrólise heterogênea apresenta uma estrutura em blocos, ou seja, em unidades N-acetil-D-glucosamina e D-glucosamina, formando a cadeia. Essa diferença na seqüência das unidades monoméricas, também está relacionada com a menor cristalinidade do polímero obtido em condições homogêneas (FELT; BURI; GURNY, 1998).

A quitina é um sólido cristalino, insolúvel em água, solventes orgânicos, ácidos diluídos e em álcalis. Dissolve-se em ácidos minerais concentrados com simultânea degradação do polímero. Um dos solventes mais utilizados para a quitina é N,N-dimetilacetamida contendo 5 % cloreto de lítio. Contudo, a quitina

também pode ser dispersa em uma solução concentrada e aquecida de tiocianato de lítio e ser submetida a uma nova precipitação em álcool, acetona ou água (MATHUR e NARANG, 1990).

Sua solubilidade em alguns solventes está relacionada com o tipo de matéria-prima utilizada para sua obtenção. A  $\beta$ -quitina obtida das cascas de siri, camarão e caranguejo é solúvel em solventes do tipo hexafluoroisopropanol e hexafluoroacetona e é completamente solúvel em cloroálcoois associados a soluções aquosas de ácidos minerais ou ácidos orgânicos (CHANDY e SHARMA, 1993).

Devido à presença de grupos amínicos, a quitosana é considerada mais versátil quimicamente do que a celulose. Esses grupos conferem a quitosana, solubilidade em uma faixa específica de pH ( $\approx 6$ ), em solventes como ácidos orgânicos diluídos (acético e fórmico) e ácidos inorgânicos, para originar soluções viscosas. Conferem propriedades como polieletrólito e agente quelante e também com possibilidade de formação de filmes, fibras e membranas (MATHUR e NARANG, 1990).

A quitosana possui massa molecular na ordem de  $1,5 \times 10^5$  Dalton, grau de polimerização entre 600 e 1.800 e uma extensão entre 60 e 80 % de desacetilação, sendo que, em solução a 1 % (p/v) de ácido acético apresenta uma viscosidade entre 250 e 2.500 cps. Quitina e quitosana são degradadas por vários lisozimas, as quais estão amplamente distribuídas em plantas e animais (FREEPONS, 1986).

### 2.3.3 Degradação térmica

Quando polímeros são aquecidos a temperaturas mais elevadas, várias mudanças físico-químicas podem ocorrer como a formação de gases, líquidos e mudanças de coloração. A degradação térmica é uma reação que envolve a ruptura das ligações das cadeias principais e secundárias. A habilidade do polímero em resistir à decomposição química causada pelo aquecimento a altas temperaturas é chamada de estabilidade térmica. A estabilidade térmica é geralmente caracterizada pela temperatura na qual a decomposição do polímero se torna perceptível pela formação de produtos e cinética do processo. Um dos fatores determinantes da estabilidade térmica do polímero é a energia das ligações da cadeia principal (LIM e WAN, 1995).

A ligação C-C (carbono-carbono) é uma das mais resistentes à degradação térmica. A presença de átomos de hidrogênio na molécula do polímero diminui a energia entre a ligação C-C, motivo pelo qual os hidrocarbonetos com elevada massa molecular e seus derivados possuem comparativamente baixa estabilidade sendo facilmente degradados com o aquecimento a temperaturas mais elevadas. Quitina e quitosana, quando aquecidas a temperaturas mais elevadas sofrem degradação. Os termogramas da quitina e quitosana, realizados por calorimetria de análise térmica diferencial e termogravimétrica mostraram um efeito endotérmico à 60°C, seguido por resistentes efeitos exotérmicos entre 280 e 480°C. A estabilidade térmica da quitina aumenta com o grau de acetilação. Quando a forma acetilada prevalece, o efeito exotérmico aparece em 320°C, enquanto que na forma desacetilada o efeito ocorre a 280°C (PENICHE-COVAS e JIMÉNEZ, 1988).

### 2.3.4 Grau de desacetilação

O grau de desacetilação (GD) é uma das características mais importantes da quitosana. Ele determina o conteúdo de grupos amínicos livres no polissacarídeo diferenciando-o da quitina e influenciando principalmente a sua solubilidade. Para a produção de quitosana, a quitina bruta é desacetilada com hidróxido de sódio a 40-50 % na temperatura de 110-115°C (MEYERS, 1977; BROUSSIGNAC, 1987; PETER, 1995).

A quitosana possui propriedades que podem variar amplamente, tais como: pureza, viscosidade, grau de desacetilação, peso molecular e estrutura polimorfa devido às diversas variáveis de processamento, entre elas, temperatura, tempo de reação e composição dos reagentes, influenciando as características do produto final. Preparações comerciais de quitosana têm valores com peso molecular entre  $10^4$  e  $10^5$  Dalton. Do ponto de vista ecológico, a produção de quitina e quitosana acarretam menos problemas do que a produção de celulose que requerem tratamentos com produtos químicos relativamente perigosos. Os produtos secundários obtidos, como acetato de sódio, carbonato de cálcio e determinados pigmentos podem ser reaproveitados. O grau de desacetilação pode variar entre 70 e 95 %, dependendo da metodologia utilizada. É importante considerar que a desacetilação da quitina em atmosfera inerte produz quitosana com maior viscosidade do que a desacetilação ao ar atmosférico (RATHKE, 1994; LI et al., 1997; KUMAR, 2000).

A literatura descreve vários métodos para a avaliação do conteúdo dos grupos amínicos livres na quitosana. Muzzarelli (1996), utilizou aldeído salicílico e tratamentos prolongados com solução concentrada de NaOH, obtendo uma completa N-desacetilação com degradação do produto.

Menciona, ainda, tratamento da quitina com 40 % de NaOH por 4 horas a 110°C. Tempos prolongados ou altas temperaturas aumentam a porcentagem de desacetilação e reduzem o tamanho da molécula.

Hayes e Davies (1978), desenvolveram um método potenciométrico em que o polímero é dissolvido em um excesso de HCl 0,3 M e diluído em um grande volume de água destilada para permitir uma boa dispersão do precipitado formado após ter sido efetuada a titulação com NaOH. A curva de titulação apresenta dois pontos de inflexão; o primeiro é a neutralização do HCl utilizado na dissolução do polímero e o segundo, a desprotonação dos grupos amínicos correspondente a diferença entre os volumes relacionados com a quantidade de NaOH, necessária para desprotonar os grupos amínicos.

Moore e Roberts (1980), trabalhando com a obtenção de quitosana, reagiram os grupos amínicos livres do polímero com aldeído salicílico na proporção 3:1, isto é, 3 mol de aldeído por mol de  $\text{NH}_2$ . A quantidade de aldeído salicílico consumido foi determinada por análise espectroscópica da solução inicial e final, determinando assim, o conteúdo dos grupos amínicos. Domszy e Roberts (1985), propuseram a técnica da espectroscopia de infravermelho para a determinação do grau de N-acetilação da quitosana.

Métodos para detectar a remoção dos grupos acetila na quitosana incluem espectroscopia de infravermelho, titulação potenciométrica, cromatografia gasosa, reação calorimétrica com ninhidrina e adsorção de corantes (DOMSZY e ROBERTS, 1985; SABNIS e BLOCK, 1997; SINGH e RAY, 1998; ALBA; LOPES-MARTINEZ; GARCIA, 1990).

Muzzarelli e Rocchetti (1986) sugeriram que a espectrofotometria de UV a 199 nm seria o melhor método para determinar o grau de desacetilação em amostras de quitosana. Com esta técnica, a leitura de absorvância de N-

acetilglicosamina é linearmente dependente da concentração e não é influenciada pela presença de ácido acético.

O conteúdo de acetila pode ser determinado por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR), infravermelho, potenciometria, titulação química ou enzimática e por cromatografia gasosa. O próton do grupo N-acetila permite, através da espectroscopia de NMR, a determinação do grau de desacetilação. O método da titulação apresenta certas dificuldades para quitina parcialmente insolúvel com alto conteúdo de N-acetila devido à demora na decomposição do polímero. A análise espectroscópica do infravermelho parece ser mais adequada devido a sua rapidez e eficiência (MOORE e ROBERTS, 1980; DOMARD e RINAUDO, 1983).

### **2.3.5 Aplicações industriais**

A quitosana apresenta propriedades antimicrobianas e estimulantes do sistema imune, as quais são manifestadas na aceleração de cicatrização de feridas (PETER, 1995; KOIDE, 1998). Outras propriedades que estão presentes na quitosana incluem: inibição de células tumorais, efeito antifúngico, atividade antiácida e antiúlcera, ação hemostática e hipocolesterolêmica (KARLSEN, 1991; LI et al., 1997).

A afinidade da quitosana por biomoléculas tem sido utilizada para reduzir efeitos adversos de medicamentos. Ouchi, Manda e Fugimoto (1989) ligaram covalentemente um antineoplásico, 5-fluorouracila, com espaçador hexametileno via ligação carbamóil. Nos experimentos *in vivo*, a quitosana direcionou o fármaco, exibindo um aumento no efeito inibitório contra as células tumorais sem apresentar toxicidade aparente.

A quitosana tem atraído a atenção como uma matriz para a liberação controlada de fármacos devido a sua decomposição por enzimas e apresentarem produtos de degradação não tóxicos. A insolubilidade da quitosana em água e em alguns solventes orgânicos limita seu uso como suporte de drogas. Também está sendo utilizada para fabricação de membranas para hemodiálise, materiais odontológicos e biomembranas artificiais para a encapsulação de enzimas (MUZZARELLI, 1996).

A quitosana exibe propriedades anticolesterolêmicas, antiúlcera e antiuricêmica quando administrada oralmente e é potencialmente apropriada para prevenção da doença celíaca. Estas propriedades são resultantes da capacidade de se ligar especificamente a ácidos graxos, bile, fosfolipídios, ácido úrico e à fração tóxica da gliadina (KOIDE, 1998).

A quitosana pode ser utilizada na produção de alimentos como desacidificador de frutas e vegetais e, na fabricação de pães. Quitina e quitosana também podem ser utilizadas como agentes texturizantes e estabilizantes (SOTO-PERALTA; MUELLER; KNORR, 1989).

Na indústria alimentícia, a quitina, através da pirólise, forma importantes aromatizantes, como a pirazina. Está presente em vários alimentos e é identificada como componente aromatizante (MATHUR e NARANG, 1990).

A quitina e seus derivados possuem grande aplicação como agentes texturizantes e estabilizantes na fabricação de sorvetes e pães com alto teor de fibras. Na biomassa, a quitosana tem sido utilizada como coagulante polieletrólítico e como agente floculante para a recuperação de proteínas a partir do processamento de resíduos de alimentos (AL ZAEMEY; MAGAN; THOMPSON, 1993). A quitosana é também utilizada para prolongar o tempo de conservação de alimentos. Quitosana com peso molecular entre 70.000 e

90.000 Dalton, adicionada ao arroz, pode controlar o crescimento de microrganismos (3 dias) sem afetar as características organolépticas. É também, utilizada na conservação de peixe, leite, pastas protéicas e conservas de pepino (KUMAR, 2000; THARANATHAN e KITTUR, 2003;).

Com relação à atuação da quitosana em emulsões, Schulz (1998) desenvolveu pesquisas com a solubilização em ácidos fracos e calcularam o seu HLB (Balanço Hidrofílico-Lipofílico). Como foram obtidos valores elevados para o HLB, concluíram que a quitosana pode atuar como um bom estabilizante em emulsões óleo-água. Observaram também, que a quitosana protege a interface da emulsão e contribui com a estabilidade mecânica e eletrostática. Jumaa e Muller (1999) prepararam emulsões combinando quitosanas unidas a outros polímeros e testaram a resistência em autoclave. Os resultados indicaram que houve a formação de um filme, com os dois polímeros na composição, na interface óleo-água. A filtração não pôde ser feita devido ao grande tamanho das suas partículas. As emulsões preparadas com a combinação quitosana-polímero mostraram adequada estabilidade durante o processo de autoclavagem.

Na emulsificação de óleo de girassol utilizando quitosana solubilizada em um ácido fraco, Del Blanco et al. (1999) verificaram que há também a influência do grau de desacetilização (GD) na qualidade das emulsões formadas. E os resultados dos experimentos indicaram, que a faixa entre 81 a 88 % de GD formaram as melhores emulsões. Isto pode ser explicado, partindo do princípio de que, se um emulsificante for muito lipofílico, algumas moléculas tendem a migrar para o óleo, resultando em uma película descontínua e falha na interface.

Em emulsões cárneas, Youn et al. (1999), adicionaram quitosana em salsichas produzidas com carne bovina, para estudar o efeito relacionado com a qualidade e armazenamento. Ao adicionarem quitosana em quantidade superior a 0,2 % (v/v), houve um aumento do tempo de armazenagem. O tempo de armazenamento foi mantido mesmo adicionando-se 50 % (v/v) do volume normalmente utilizado de nitrito de sódio. A cor vermelha também foi intensificada com a adição de quitosana. Os autores concluíram que, a adição de quitosana com peso molecular de 30.000 Dalton melhorou significativamente a qualidade e tempo de estocagem das salsichas.

O desenvolvimento de tecnologias baseadas na utilização de derivados da quitina é devido às suas propriedades polieletrólíticas, a presença de grupos funcionais reativos, a habilidade de formação de gel, elevada capacidade de adsorção, biodegradabilidade, efeito bacteriostático e características fungicidas. A quitina é obtida por processo industrial a partir de carapaças de crustáceos e parede celular de espécies de fungos. Tradicionalmente, a quitina é isolada de carapaças de crustáceos com desmineralização com ácido diluído e desproteínização através de um álcali aquecido. A quitina é convertida em quitosana por desacetilação com solução de NaOH concentrada. Isto causa mudanças no peso molecular e no grau de desacetilação do produto (SYNOWIECKI e AL-KHATEEB, 2003).

Ainda conforme Synowiecki e Al-khateeb (2003), estudos mostram que a quitina é resistente a desacetilação enzimática. Entretanto a quitina parcialmente desacetilada por tratamentos químicos pode ser, ainda, processada por processo enzimático (enzimas desacetilases). Já a eficiência da desproteínização depende da origem do crustáceo e das condições de

processamento e, o tratamento enzimático remove mais do que 90 % da proteína e carotenóides do camarão no processo por arraste com vapor.

Roller et al. (2002) desenvolveram estudos relacionados com novos sistemas de preservação de salsichas a partir de carne de suíno baseado na combinação de quitosana, carnocina (bacteriocina produzida por *Carnobacterium piscicola*) e alta concentração de sulfito. Os estudos mostraram que 0,6% de quitosana combinado com reduzido teor de sulfito (170 ppm) retarda o crescimento de microrganismos deterioradores (3 a 4 log UFC g<sup>-1</sup>) do que a utilização de altos níveis de sulfito (340 ppm) à temperatura de refrigeração (4°C) durante 24 horas. A contagem microbiana das salsichas congeladas mostrou que a eficiência do sistema preservativo quitosana/sulfito se manteve na estocagem do produto congelado. A carnocina não evita a deterioração da salsicha, mas como componente participante do sistema de biopreservação, reduz a contagem de *Listeria innocua* em 2 log UFC g<sup>-1</sup> nos primeiros 5 dias de estocagem sob refrigeração. Comparando os tratamentos, o sulfito é degradado rapidamente nos três primeiros dias de estocagem em todas as amostras de salsicha que contém apenas este preservativo. Os níveis se reduzem rapidamente, porém, persistem por mais tempo na presença da quitosana. Os resultados das análises descritivas quantitativas dos 31 julgadores refletem a gradual deterioração de todas as amostras de salsicha durante a estocagem. Salsichas produzidas na Inglaterra, com carne de suínos contém 60 % de carne (determinada pela legislação inglesa), gordura, amido e condimentos dissolvidos em molho à base de proteínas colagenosas. Na Inglaterra, o metabissulfito de sódio é utilizado na inibição da microbiota deterioradora da salsicha crua para assegurar a vida de

prateleira durante 15 dias à temperatura de refrigeração. O sulfito é um agente seletivo; inibe o crescimento de bactérias Gram-negativas permitindo a atividade da microbiota fermentativa (bactérias Gram-positivas e leveduras). Estas últimas são responsáveis pela produção de acetaldeído ocasionando a inativação do sulfito, causando uma redução na atividade antimicrobiana.

Byun et al. (2001) pesquisaram as propriedades qualitativas das salsichas de suínos preparadas com quitosana com alto peso molecular. As salsichas foram embaladas a vácuo e estocadas a 4°C durante 3 semanas. Os resultados mostraram que não houve diferença de crescimento microbiano entre as amostras com a adição de quitosana com elevado peso molecular e o controle ( $P > 0,05$ ). Em comparação com o controle, durante as três semanas de estocagem, a oxidação de lipídios foi inferior na salsicha produzida com quitosana com elevado peso molecular. Os julgadores da avaliação sensorial não detectaram diferenças na coloração, sabor, textura e aceitação para consumo, assim como, as análises de textura por instrumentação também não mostraram diferenças significativas.

### **2.3.6 Efeitos no trato gastrointestinal**

A não digestibilidade no trato gastrointestinal superior, alta viscosidade, natureza polimérica e baixa afinidade pela água no trato gastrointestinal inferior são fatores responsáveis pelo efeito hipocolesterolêmico da dieta fibrosa. A quitosana atende a maioria destes critérios e tem uma característica específica em relação a outras fibras; *in vitro*, pode ligar-se a

uma variedade de ânions, como ácidos biliares e ácidos graxos livres em soluções com pH reduzido através das ligações iônicas resultantes dos grupos amínicos (GOOSEN, 1997).

O mecanismo de inibição do colesterol e absorção dos triglicerídios pela dieta fibrosa não é muito bem definido. Vários mecanismos são sugeridos: a redução do esvaziamento gástrico e tempo de trânsito intestinal, a absorção de sais biliares e, conseqüentemente, a inibição da solubilidade micelar do colesterol e digestão de glicerídeos, a redução da acessibilidade das micelas na superfície das células absorventes do intestino, particularmente pelas fibras viscosas e a alteração crônica da secreção de enzimas e função fisiológica das células absorventes do intestino. Visto que a potência da dieta fibrosa como absorvente de ácido biliar é influenciada pelas condições iônicas, como o pH e osmolaridade do conteúdo intestinal, devem ser avaliadas as propriedades físico-químicas dos lipídios bem como das fibras associadas à dieta (IKEDA; TOMARI; SUGANO, 1989).

Considerando a viscosidade da goma guar, celulose e quitosana, Ikeda et al. (1989) verificaram que a quitosana foi a mais efetiva na redução da absorção de colesterol.

Alguns autores mencionam que o grau de polimerização da unidade de glicosamina é o maior determinante da viscosidade e está diretamente ligado ao peso molecular da molécula. Embora não existam evidências claras sobre a efetividade da viscosidade no efeito hipocolesterolêmico, parece que algum grau de polimerização é requerido para provocar esta atividade (GOOSEN, 1997).

A adição de ácido ascórbico em uma solução de quitosana acidificada com HCl diminuiu a viscosidade, indicando que a inibição da digestão de

gorduras pela quitosana se deve a sua mobilidade no estômago e ao abaixamento do pH em meio ácido (KANAUCHI et al., 1994; KANAUCHI et al., 1995). Ainda, segundo os autores foi sugerido um mecanismo para a diminuição da digestibilidade das gorduras pela ação da quitosana associada ao ácido ascórbico; a quitosana, solúvel no ácido gástrico, é misturada com as gorduras da dieta no estômago e emulsificada pelo ácido ascórbico. Quando a mistura entra em contato com o suco pancreático (meio alcalino), gotículas de óleo absorvem o gel de quitosana e são excretadas através das fezes.

Kanauchi et al. (1995) e Ventura (1996) estudando os mecanismos de ação da quitosana no sistema digestivo, concluíram que a solubilização pelo ácido gástrico é imprescindível para a emulsificação das gorduras. No estômago, a quitosana torna-se um sal solúvel e reage com o ácido clorídrico, ácidos biliares e orgânicos interferindo com a emulsificação das gorduras. Como a quitosana torna-se insolúvel em pH próximo a 6,3 no intestino ela precipita e forma agregados com ácidos graxos, colesterol e gorduras.

Pelo ao fato da quitosana ligar-se a ácidos graxos, é possível preparar complexos utilizando ácidos oléico, linoléico ou palmítico. O complexo, depois da ingestão, poderá ligar lipídios adicionais no intestino, provavelmente devido a sua alta característica hidrofóbica. Uma boa parte destes lipídios ligados poderão ser absorvidos e excretados antes de serem metabolizados (GOOSEN, 1997; FURDA, 1980).

Ventura (1996) e Veneroni (1996) conduziram diferentes experimentos para determinar o efeito de uma nova dieta com quitosana em pacientes obesos. Eles foram divididos em dois grupos: um foi tratado com dieta hipocalórica e quitosana e o outro com a mesma dieta do primeiro e placebo por quatro semanas. Ao final do período de estudo, uma redução

estatisticamente significativa no peso corporal e sobrepeso, triglicerídios, colesterol total e colesterol LDL foram observados em ambos os grupos, mas, naquele tratado com quitosana, as diferenças foram estatisticamente melhores que o do placebo. Do resultado obtido, a dieta com administração de quitosana parece apresentar um tratamento mais adequado para tratar o sobrepeso e hiperlipidemia em indivíduos obesos.

Outro estudo conduzido por Goosen (1997) obteve dados de efeitos da dieta com quitosana em homens adultos. A fibra foi administrada na forma de biscoito por um período de estudo de quatro semanas. Quando a quitosana foi adicionada na dieta (3 a 6 g/dia), o nível sérico de colesterol total diminuiu significativamente, enquanto o de lipoproteína de alta densidade aumentou quando comparado com os níveis antes da ingestão.

Wright, Burstyn e Gibney (1979) observaram que, substituindo a gordura saturada por insaturada numa dieta pobre em fibras, houve uma diminuição expressiva da pressão sangüínea em hipertensos. Entretanto, quando estudava outro grupo tratado somente com dieta rica em fibras, obteve resultados idênticos. Isso indica que uma associação de dieta fibrosa com substituição de gordura saturada por insaturada pode contribuir significativamente para a melhoria da saúde de hipertensos.

A dose de quitosana prescrita é muito baixa em relação àquela usada em testes com animais. Ela é reconhecida como um componente seguro, atóxico e desprovida da capacidade de ação de enzimas humanas envolvidas na síntese de colesterol, e isso a torna diferente de outras drogas. Portanto, não há risco de overdose, não favorece efeitos colaterais, e não tem ação estimulante (MUZZARELLI, 1996).

### 2.3.7 Atividade antimicrobiana

Jolles e Muzzarelli (1999), inibiram completamente o crescimento do tóxico *Aspergillus flavus* em milho e em amendoim após tratamento com quitosana. Também foi inibido o crescimento de *Botrytis* spp. com o tratamento de quitosana em berinjela.

Ghaouth et al. (1992); Ghaouth e Wilson (1996) apud Jolles e Muzzarelli (1999) utilizaram quitosana no revestimento de frutas e vegetais na prevenção de patogênicos. Os autores conseguiram um aumento na qualidade e no tempo de armazenamento do produto. A fonte de quitosana influi diretamente na sua atividade antimicrobiana. Apesar de poder ser obtida a partir de bactérias, fungos e crustáceos, é a partir destes últimos que ela apresenta um maior número de mecanismos antimicrobianos, incluindo a indução de quitosanase, formação de componentes fenólicos e capacidade de bloqueio de nutrientes, inibindo a multiplicação de microrganismos. Além disso, a quitosana solubilizada é mais efetiva como agente antimicrobiano do que na forma sólida. Sendo assim o tipo de ácido utilizado na preparação das soluções de quitosana, também influenciam na atividade antimicrobiana.

Soluções de quitosana preparadas com ácido acético exibiram contra fungos efeitos mais imediatos quando comparadas com soluções preparadas com ácido láctico (JOLLES e MUZZARELLI, 1999).

Em relação ao efeito da quitosana na inibição microbiana em produtos cárneos, Quattara et al. (2000) avaliaram a possibilidade de utilizar filmes antimicrobianos, com o intuito de retardar a perda de inibidores bacterianos da superfície dos produtos cárneos. Os filmes antimicrobianos foram preparados incorporando ácido acético e propiônico em uma matriz de quitosana, com ou

sem adição de ácido láurico ou cinamaldeído. Com esta aplicação, conseguiram inibir o crescimento de *Enterobacteriaceae*, *Serratia liquefaciens*. Estes pesquisadores conseguiram inibir o crescimento de *P. fragi*, *S. aureus*, e *B. subtilis* com quitosana (0,01 %) em meio líquido, durante incubação a 30°C por 24 h. *E. coli* foi inibida com quitosana a 0,1 %. *L. plantarum* e *P. pentosaceus* (cultivos iniciadores utilizados em produtos cárneos) foram inibidas a 0,1 % e não se multiplicaram a 0,5 %. Estafilococos, coliformes, bactérias Gram-negativas, micrococcos e pseudomonas tiveram o crescimento inibido, em carnes, durante estocagem a 30 e 4°C, durante 48 h e 10 dias, respectivamente, com a adição de quitosana. A taxa de oxidação lipídica na carne foi reduzida, como indicado pela queda no valor de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) durante a estocagem a 30°C. A queda no valor do TBA foi dependente da concentração de quitosana. Nas concentrações de 0,2, 0,5 e 1 %, o valor do TBA reduziu para 10, 25 e 40 %, respectivamente. Durante estocagem a 30°C durante 24 e 48 h, o conteúdo de nitrogênio (%) da carne contendo quitosana foi inferior ao da amostra sem a adição de quitosana. O mesmo resultado foi observado durante a estocagem a 4°C durante 3, 5 e 10 dias. Isto pode ser explicado pelo fato da quitosana inibir o crescimento microbiano. Bactérias secretam enzimas proteolíticas, degradando as proteínas e produzindo nitrogênio volátil.

O crescimento de bactérias Gram-negativas, particularmente pseudomonas e enterobacteriaceas é inativado em salsichas com a adição de sulfitos, mas favorece o crescimento de leveduras, contribuindo para que esta microbiota permaneça de forma dominante no produto. O resultado do desenvolvimento desta microbiota (levedura) é a produção de acetaldeído, que, por decorrência, provoca a inativação do sulfito. Os sulfitos são

largamente utilizados em produtos de carne. Entretanto, a exposição a este agente, provoca, em determinados indivíduos com maior sensibilidade, problemas respiratórios e o agravamento da asma. Desde 1995, a Diretiva Colegiada da Comunidade Européia é responsável pela determinação dos níveis de sulfito na aplicação em alimentos. Nos Estados Unidos, agentes sulfitantes não são permitidos em carnes. A partir de 1986, foi banida a sua utilização em frutas frescas e vegetais. Entretanto, alguns industriais, deliberadamente, adicionam sulfitos ou outros preservativos químicos em alimentos caracterizando as conhecidas adulterações (ROLLER et al., 2002).

Em função da legislação implantada no Estados Unidos da América, há necessidade de uma alternativa relacionada com o desenvolvimento de novos sistemas de preservação para carne e outros produtos alimentares. As possibilidades para a utilização da quitosana têm sido a quelação de metais no tratamento de água e a produção de fibras dietéticas. Entretanto, a quitosana exibe atividade antimicrobiana contra a maioria dos fungos filamentosos causadores de doenças alimentares, leveduras e bactérias e tem sido indicada como um preservativo alternativo, de origem natural, no processamento de alimentos (RHOADES e ROLLER, 2000).

As pesquisas indicam uma concentração inibidora ( $\text{SO}_2$ ) mínima que varia de 0,01 a 1,0 %. Entretanto, a eficiência antimicrobiana demonstrada *in vitro* não é observada com a aplicação em alimentos devido a natural e elevada reatividade dos radicais catiônicos da quitosana que interagem de forma acentuada com as proteínas, gorduras e outras substâncias aniônicas presentes nos produtos alimentícios (KNOWLES e ROLLER, 2001).

Conforme relatos de Roller et al. (2002) e Quattara et al. (2000) indicam, porém, a eficiência da atividade da quitosana no controle do crescimento de

fungos em frutas e vegetais durante a estocagem e distribuição destes produtos. Uma outra potencialidade da quitosana, associada à atividade antimicrobiana, se refere a aplicação em sucos de frutas, molhos emulsificados e saladas de vegetais cozidos. Em produtos cárneos, os estudos indicam uma elevada inibição ( $1 \log \text{UFC g}^{-1}$ ) de crescimento microbiano em pedaços de carne refrigerados com a adição de 1,0 % de quitosana.

Sagoo, Roller e Board (2002) comprovaram em trabalhos de pesquisas a eficiência da aplicação da quitosana, com percentual de 1,0 % na prevenção da deterioração da carne de suíno estocada em temperatura de  $7^{\circ}\text{C}$  durante 18 dias. Menciona ainda que, contrastando com os resultados desta pesquisa, associada com o poder antimicrobiano da quitosana em carnes, outros trabalhos informam a ineficiência inibidora da quitosana frente a *Serratia liquefaciens* ou *Lactobacillus sakei* presente em presunto cozido acondicionado em filmes com quitosana e estocado a  $4^{\circ}\text{C}$  sob vácuo por 21 dias, a menos que, o filme com quitosana, fosse primeiramente impregnado com uma proporção de compostos antimicrobianos incluindo ácido acético, ácido propiônico e aldeídos específicos. A diferença na aparente eficiência antimicrobiana da quitosana pode ser atribuída a fatores relacionados com a diferença da microbiota na operação de cura, embalagem a vácuo do presunto cru, estocagem da salsicha na forma aeróbia, variação de nutrientes e do nível de oxigênio presente na embalagem, a presença ou interferência de ingredientes e outros preservativos alimentares.

Crítérios microbiológicos estabelecidos em 1990 recomendam que a contagem total de microrganismos em salsicha crua não poderá exceder a  $10^5 \text{UFC g}^{-1}$  imediatamente após a fabricação sob as Boas Práticas de Fabricação (INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY – IFST, 1999). Na

pesquisa de Knowles e Roller (2001) a contagem total de aeróbios mesófilos viáveis na salsicha tratada com 1,0 % de quitosana se manteve abaixo dos níveis máximos aceitáveis especificados pela referência microbiológica para carnes durante 15 dias. A pesquisa realizada com a salsicha crua submetida ao tratamento com quitosana aumentou a vida de prateleira, na temperatura de resfriamento (4°C), de 7 para 15 dias (INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY - IFST, 1999)

Darmadji e Izumimoto (1994), desenvolvendo pesquisa semelhante, mencionaram que, a quitosana utilizada na concentração de 1,0 %, reduziu a contagem bacteriana de 1 a 2 log UFC g<sup>-1</sup> em carne de bovino moída, estocada a 4°C durante 10 dias. A contagem bacteriana foi avaliada somente em duas ocasiões: no início da preparação e no décimo dia. Nos tratamentos equivalentes às concentrações reduzidas de quitosana (0,2 e 0,5 %), na temperatura elevada de estocagem (30°C), não houve inibição bacteriana. Neste trabalho, é preciso considerar ainda, o número de microrganismos considerados como microbiota (inicial) acompanhante da carne (> 10<sup>7</sup> UFC g<sup>-1</sup>).

Mais recentemente, Youn et al. (2001) relataram a inativação de 2 log UFC g<sup>-1</sup> da contagem total de microrganismos em salsicha de carne imediatamente após a fabricação e adição de 0,35 a 0,5 % de quitosana; entretanto, após a estocagem por 1 dia a 30°C, a contagem total de microrganismos na salsicha tratada com quitosana foi a mesma do controle. Este pesquisador sugere que, neste sentido, a quitosana quando utilizada em concentrações reduzidas como preservativo de carne mantém eficientemente a vida de prateleira de carne crua cominuída e seus derivados quando estocados à temperatura de refrigeração. É recente os estudos com quitosana associados a avaliação inibidora de microrganismos e como produto inócuo para consumo

humano (*GENERALLY RECOGNIZED AS SAFE – GRAS*) pelo US-FDA, que restringiu sua utilização em alimentos. Há necessidade de pesquisas com alimentos na avaliação da quitosana como inibidora de bactérias, principalmente no que se refere ao modo de ação sobre os microrganismos. Estudos indicam que as cargas catiônicas da quitosana são capazes de reagir com as cargas aniônicas presentes na parede celular das células das bactérias Gram-negativas, ocasionando ruptura da parede celular e desequilíbrio do citoplasma. A combinação de quitosana com concentrações reduzidas de sulfitos poderá ser bastante eficiente como novas pesquisas, de maneira que se obtenha uma redução de preservativos sintéticos em alimentos.

Zhu e Zheng (2003) pesquisaram a atividade antimicrobiana da quitosana em diferentes condições e obtiveram resultados conflitantes. Quando *Staphylococcus aureus* foi usado como microrganismo, os resultados mostraram que o efeito antimicrobiano é maior quando a quitosana tem baixo peso molecular (ZHU e ZHENG, 2003).

Estudos semelhantes, Xia (1996) citado por Zhu e Zheng, (2003) mostraram que o efeito da atividade antimicrobiana sobre a *E. coli* reduziu com o aumento do peso molecular da quitosana. De acordo com o pesquisador, há indicações que o peso molecular da quitosana mais apropriado para a atividade antimicrobiana é 1,5 kDa. Outros experimentos, Jeon e Kim (2000) citados por Zhu e Zheng (2003) mostram que, na concentração de 0,5 %, oligossacarídeos podem inibir o crescimento de *E. coli* completamente. Contrastando, Ueno et al. (1997) citados por Zhu e Zheng (2003) mencionam que, a quitosana com peso molecular menor que 2,2 kDa tem um efeito muito reduzido no crescimento bacteriano. Com peso molecular de 40 kDa inibe 90 % de *Staphylococcus aureus* e *E. coli*. A pesquisa de Zhu e Zheng (2003) que

avalia a relação de inibição para estes dois microrganismos em função da utilização da quitosana com diversos pesos moleculares, preparada por degradação enzimática, considerando o grau de desacetilação de 88,76 % é mostrado nas tabelas 5 e 6.

**Tabela 5 – Efeito antimicrobiano da quitosana sobre a *Escherichia.coli*.**

| PM (kDa) | Relação de inibição (%)   |      |       |       |
|----------|---------------------------|------|-------|-------|
|          | Concentração de quitosana |      |       |       |
|          | 0,25%                     | 0,5% | 0,75% | 1,00% |
| < 5      | 50                        | 60   | 90    | 100   |
| 48,5     | 30                        | 80   | 90    | 100   |
| 72,4     | 5                         | 10   | 50    | 100   |
| 129      | 0                         | 5    | 90    | 100   |
| 166      | 0                         | 40   | 80    | 100   |
| 305      | 0                         | 40   | 50    | 100   |

PM: Peso molecular  
Fonte: Zhu e Zheng (2003)

**Tabela 6 – Efeito antimicrobiano da quitosana sobre *Staphyococcus aureus*.**

| PM (kDa) | Relação de inibição (%)   |      |       |      |
|----------|---------------------------|------|-------|------|
|          | Concentração de quitosana |      |       |      |
|          | 0,25%                     | 0,5% | 0,75% | 1,0% |
| < 5      | 0                         | 0    | 0     | 0    |
| 48,5     | 0                         | 95   | 99    | 100  |
| 72,4     | 0                         | 96   | 99    | 100  |
| 129      | 40                        | 100  | 99    | 100  |
| 166      | 95                        | 100  | 100   | 100  |
| 305      | 99                        | 100  | 100   | 100  |

PM: Peso molecular  
Fonte: Zhu e Zheng (2003)

Com relação a *E. coli*, uma bactéria Gram-negativa, a atividade antimicrobiana aumentou com o decréscimo do peso molecular da quitosana. A solução de quitosana a 0,25 % (peso molecular < 5 kDa) inibiu o crescimento da *E. coli*. Contrastando, com relação a *S. aureus*, bactéria Gram-positiva, a atividade antimicrobiana aumentou com o aumento do peso molecular da quitosana. O efeito da inibição foi o mais elevado com o peso molecular equivalente a 305 kDa, mesmo com a menor concentração da quitosana em solução (ZHU e ZHENG, 2003).

## **2.4 Carne e produtos cárneos**

A carne é definida como o tecido muscular de animais, utilizada como alimento. No entanto, se amplia este conceito incluindo junto à musculatura, órgãos, tais como o fígado, rins e outros tecidos comestíveis (LAWRIE, 1967). A carne suína é vermelho-rósea, com textura firme e untuosa.

As proteínas do músculo podem ser classificadas em: sarcoplasmáticas (miogênio e globulinas), solúveis em água ou soluções salinas diluídas e, constituem cerca de 30-35 % da proteína total do músculo esquelético formando um complexo de aproximadamente 50 componentes, muitos dos quais são enzimas do ciclo glicolítico (GOLL; ROBSON; STROMER, 1977); miofibrilares, solúveis em soluções concentradas; a miosina é a mais abundante das proteínas miofibrilares. Devido ao seu alto conteúdo em ácido aspártico, glutâmico e aminoácidos dibásicos, possuem uma carga elétrica elevada, com grande afinidade pelos íons cálcio e magnésio. A outra proteína importante da miofibrila é a actina. A interação entre a miosina e actina forma a actomiosina, contrátil do músculo ativo ou em pré-rigor e a actomiosina

inextensível do músculo em rigor mortis. A tropomiosina, é composta por aminoácidos semelhante a miosina e, como esta, contém poucos grupamentos amínicos livres (GHINELLI, 1977).

Cerca de 97 % da capacidade de retenção de água e 90 % da capacidade de emulsificação da carne é devido às proteínas miofibrilares. Compõem entre 52 e 56 % da proteína total do músculo esquelético (GOLL; ROBSON; STROMER, 1977).

As proteínas do estroma, insolúveis em soluções salinas concentradas e solventes aquosos neutros, compreendem de 10 a 15 % da proteína total do músculo esquelético. Fazem parte das proteínas do estroma, o tecido conectivo, sendo que as proteínas colagenosas correspondem a 40 -60 % e a elastina de 10 a 20 % do total das proteínas classificadas neste grupo. Fazem parte, ainda, as lipoproteínas e as mucoproteínas das membranas celulares (GHINELLI, 1977).

#### **2.4.1 Processamento industrial**

Pardi et al. (1995) propuseram a seguinte classificação para as carnes destinadas à fabricação de produtos de salsicharia:

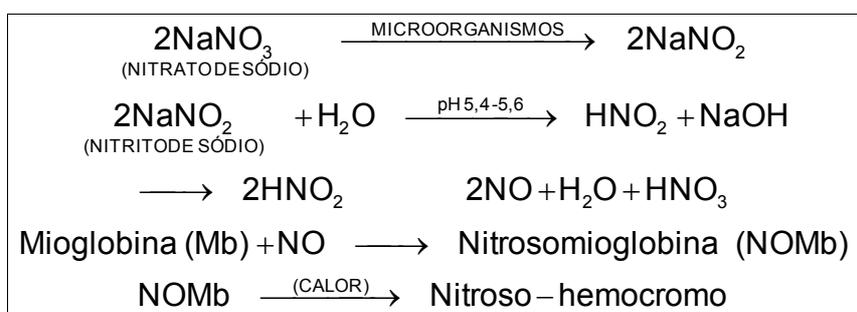
- primeira categoria: carne magra, sem gordura aparente, desprovida de tecido conjuntivo (tendões, nervos, aponevroses), vasos sanguíneos mais calibrosos, glândulas, nodos linfáticos e sangue;

- segunda categoria: carne magra, sem gordura aparente, isenta de nervos, aponevroses, vasos sanguíneos e desprovidos de glândulas, nodos linfáticos e sangue;

- terceira categoria: carne de cabeça, esôfago, faringe, recortes de língua, diafragma, vísceras comestíveis com exceção de pulmões, do baço e sangue.

Entende-se por produtos cárneos processados, aqueles em que as propriedades originais da carne fresca foram modificadas através de tratamentos físicos, químicos ou biológicos, ou ainda, através da combinação destes métodos. O processo envolve geralmente cortes ou operações de misturas e homogeneizações com a adição de condimentos, especiarias e aditivos. Estes processos objetivam o prolongamento da vida-de-prateleira dos produtos, de modo a anular ou reduzir a ação de enzimas e microrganismos. A cura de carnes, como exemplo, se refere ao processo de conservação através da adição de NaCl, nitrato e nitrito de sódio, eritorbato de sódio, carboidratos e condimentos, com melhoria das propriedades sensoriais (PARDI et al., 1994).

Os nitritos e nitratos de sódio são amplamente utilizados em produtos cárneos. São responsáveis pelas características dos produtos curados, como a formação da cor, o desenvolvimento do sabor e aroma, retardando o processo de rancificação e prevenindo a produção de toxinas por *Clostridium botulinum*. A cor vermelha da carne provém do pigmento instável denominado mioglobina, presente na musculatura e que se altera na presença de oxigênio ou quando submetido a altas temperaturas. A maturação dos produtos cárneos é resultado da reação química entre a mioglobina e o óxido nítrico derivado do nitrito, como mostra a figura 1 (ROCCO, 1999). Não se conhece até a presente data, outro aditivo químico capaz de realizar estas funções (DOMINICI, 1981; KUMAR, 1982; RIEDEL, 1992).



Fonte: Rocco, 1999.

**Figura 1 - Reações de oxi-redução de nitratos e nitritos em carne.**

Sais como o cloreto de sódio tem a capacidade de extrair e solubilizar as proteínas miofibrilares além de atuar como conservante e agente saborizante. Quanto mais elevada a concentração no produto, mais eficiente é a sua atuação como conservante, sendo o fator limitante a sua interferência no sabor. Durante o preparo de uma emulsão cárnea, o NaCl deve ser o primeiro componente a ser adicionado, juntamente com a carne utilizada na formulação. Este procedimento proporcionará a extração e posterior solubilização parcial das proteínas miofibrilares (RODRIGUES, 1988). Os fosfatos (tabela 7), quando adicionados à carne, aumentam a capacidade de retenção de água e elevam o pH.

**Tabela 7 - Ação dos fosfatos na carne bovina.**

| Fosfatos   | Ph  | Formação de cor | Retenção |      |
|--|-----|-----------------|----------|------|
|  |     |                 | Cor      | Água |
| Controle   | 6,0 | —               | —        | —    |
| Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> | 5,9 | A               | A        | D    |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                             | 6,0 | A               | A        | D    |
| Na <sub>6</sub> P <sub>6</sub> O <sub>18</sub>               | 6,0 | A               | A        | A    |
| Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>               | 6,2 | D               | D        | A    |
| Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>                | 6,3 | D               | D        | A    |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                             | 6,4 | D               | D        | A    |

A: aumentou, D: diminuiu.

Fonte: Rodrigues, 1988.

Quando os fosfatos alcalinos são utilizados em produtos emulsionados, sua função específica é de estabilizar a emulsão. O aditivo glucona-delta-lactona (GDL), com pH neutro, quando adicionado à água é gradualmente hidrolisado a ácido glucônico. O pH neutro é desejável durante a emulsificação para maior estabilidade da emulsão, e a subsequente propriedade ácida é vantajosa para o desenvolvimento da cor. A elevação da temperatura aumenta a velocidade da

hidrólise da GDL. Na produção de salsichas, as carnes e os demais ingredientes são adequadamente triturados, obtendo-se uma massa homogênea denominada de emulsão. A emulsão é definida como sendo dois líquidos dispersos no estado coloidal. Eles não se dissolvem entre si, mas, no entanto, são mantidos em suspensão por agitação ou através da utilização de agentes emulsificantes. São exemplos clássicos de emulsão: leite, maionese e margarina. As partículas de gordura do leite são mantidas suspensas na fase aquosa e a caseína (proteína do leite) age como emulsionante. Portanto, o termo emulsão não é adequado para a massa de salsichas e mortadelas, porque não é formado por dois líquidos que não se dissolvem mutuamente e, além disso, suas partículas são de dimensões que comprometem a definição de emulsão (RODRIGUES, 1988).

Devido à tradição e continuidade, é comum o uso do termo “emulsão” para a massa de carne finamente dividida. A emulsão cárnea é uma suspensão coloidal complexa não totalmente homogênea e suas partículas dispersas possuem tamanho entre 10 e 50 micras. A fase dispersa é constituída por partículas de gordura, fibra muscular, aditivos, amidos e, a fase contínua, é constituída por água, cloreto de sódio, proteínas hidrossolúveis e outros elementos solúveis. Duas teorias explicam os mecanismos de estabilização dos produtos cárneos emulsionados: a da emulsão, na qual as massas são basicamente descritas como emulsões de óleo-água, e a do aprisionamento físico, na qual as partículas de gordura não se separam devido à formação de uma rede protéica que retém essas partículas, juntamente com a água. Ambas as teorias são importantes e a contribuição de cada uma depende de fatores como pH, força iônica, ponto de fusão e tamanho das partículas de gordura e condições de processamento (BETANO; SHIMOKOMAKI; OLIVO, 1994).

A retenção de água e gordura depende de complexas interações de diversas e diferentes proteínas com diferentes tipos de funcionalidade. Segundo Jones e Mandigo (1982) citados por Betano, Shimokomaki e Olivo (1994), a máxima estabilidade é conseguida através do equilíbrio entre a espessura do filme protéico interfacial e a densidade da matriz protéica durante o cozimento. Estas duas funções irão determinar a capacidade do sistema em reter gordura e água.

Na indústria de carnes, o termo “ligador” aplica-se a uma série de substâncias que, acrescidas à massa cárnea, contribuem para aumentar a retenção de água ao mesmo tempo em que promovem a estabilidade da mistura através da emulsificação das gorduras. Entre os ligadores, os mais empregados são os concentrados protéicos e proteínas isoladas de soja. Estas últimas apresentam elevado poder dispersante e emulsificante, semelhante a miosina da carne; é termo-coagulável, o que possibilita, após o cozimento, um aumento na estabilidade da massa de carne. Vários ingredientes amiláceos são adicionados com esta finalidade, na produção de embutidos cozidos, e entre eles destacam-se: fécula de batata e de mandioca e o amido de milho. Com a pouca ou nenhuma proteína presente, estes farináceos comportam-se apenas com uma única função; reter a umidade no produto cárneo não oferecendo qualquer atividade como agente emulsificante. A estabilidade dessas emulsões é aumentada pelos dispositivos mecânicos como agitadores, homogeneizadores ou moinhos coloidais. Também são adicionados alguns compostos que têm a propriedade de manter a estabilidade, como os emulsificantes (COFRADES; CARBALLO; JIMÉNEZ-COLMENERO, 1997; CANDOGAM e KOLSARICI, 2003; OSBURN, 2004).

Segundo Pardi et al. (1994), as especiarias mais utilizadas em produtos de salsicharia são: cebola, alho, noz-moscada, pimenta-do-reino, branca e preta. São também empregados a páprica (pimentão vermelho seco moído), a pimenta-da-jamaica e a canela em pó. O uso de especiarias varia de acordo os hábitos regionais, o que determina a incorporação de grande variedade desta condimentação.

Mais recentemente, produtores de embutidos têm utilizado compostos extraídos de algas marinhas (carragenas) como agentes espessantes e geleificantes. A carragena é um polissacarídeo hidrossolúvel do grupo de hidrocolóides. A habilidade da carragena para formar géis em produtos cárneos tem proporcionado vantagens como: aumento de rendimento, consistência, fatiabilidade, espalhabilidade e coesão da massa relacionada com estes produtos. Durante o processamento da carne, adiciona-se água pura ou salmoura e isto, até certo ponto, influencia a suculência e a consistência do produto final. Entretanto, durante o tratamento térmico, a água geralmente exuda, resultando em resíduo. Além disso, a água exudada conjuntamente com as proteínas cárneas extraídas podem aparecer na superfície como um gel desagradável. Neste caso a carragena auxilia na redução da perda no cozimento (NAZÁRIO, 1995).

Hughes, Cofrades e Troy (1997) incluíram na formulação de salsichas tipo Frankfurt com baixos teores de gordura, carragena e aveia. Os resultados dos experimentos indicaram que houve uma diminuição da perda de peso no cozimento, aumento na capacidade de retenção de água e da estabilidade da emulsão quando comparados aos resultados dos experimentos com a substituição da água pela gordura.

Em pesquisas semelhantes, Crehan et al. (2000) utilizaram maltodextrina na elaboração de salsichas tipo Frankfurt com baixos teores de gordura. Constataram que, em salsichas, principalmente aquelas produzidas com 12 % de gordura, este ingrediente adicionado conseguiu compensar a falta de estabilidade da massa quando a gordura foi substituída por água.

Yetim, Müller e Eber (2001) utilizaram soro de leite líquido para substituir o gelo na formulação de salsichas tipo Frankfurt. O soro de leite contém aproximadamente 50 % dos nutrientes encontrados no leite, sendo também uma excelente fonte de aminoácidos essenciais. Quando o gelo foi substituído (100 %) pelo soro, houve uma melhoria na estabilidade da emulsão e nas propriedades sensoriais e químicas quando comparada com as salsichas produzidas sem a adição deste ingrediente.

A massa crua (salsicha), depois de emulsificada pode ser embutida em envoltórios naturais ou artificiais. As tripas artificiais, como a de celulose, foram desenvolvidas como alternativa de utilização às tripas naturais existentes. A tripa de celulose é permeável à água e aos ácidos de baixo peso molecular, mas impermeável às proteínas e microrganismos. Podem ainda ser opacas e proteger os embutidos sensíveis à luz. A grande desvantagem das tripas artificiais é que elas não são digeríveis e devem ser retiradas antes do consumo. A tripa de colágeno reconstituído combina as vantagens das tripas naturais e artificiais. Esta tripa é produzida usando como matéria-prima o colágeno do animal encontrado no couro, tendões e outros tecidos conectivos (RODRIGUES, 1988).

#### **2.4.2 Gordura saturada em embutidos**

Segundo o IBGE - Anuário Estatístico do Brasil (1994), do total de 820.000 óbitos humanos registrados em 1994, 230.000 foram devidos às doenças do aparelho circulatório. Estes números se tornam expressivos se comparados a outras causas de morte, como aquelas causadas por neoplasias (83.000), doenças do aparelho respiratório (71.000), por doenças infecciosas e parasitárias (42.000). Outros fatores contribuem para a existência de dados alarmantes como a hipertensão, o fumo, o estresse, a vida sedentária, sendo, contudo, a alimentação inadequada um dos fatores mais importantes.

No Brasil, os produtos de salsicharia, em seu conjunto, equivaleram nos estabelecimentos sob Inspeção Federal a um total de 340.670 t ou 44,78 % em relação aos demais tipos de carnes processadas. Devido ao grande consumo e seu elevado teor de gordura, os embutidos têm sido incluídos numa lista de produtos a serem evitados. Em países desenvolvidos, como Estados Unidos, o Departamento de Agricultura têm solicitado às indústrias, alimentos com frações lipídicas menores, entre eles, salsichas de diferentes tipos. A razão desta preocupação reside no fato de que o consumo de gordura animal em percentuais elevados de ácidos graxos saturados responde significativamente pelo aumento da taxa de colesterol no sangue, e se constitui um dos principais fatores de risco para doenças coronarianas (HARPER, 1990).

O colesterol se deposita na camada interna das artérias, principalmente nos vasos de grande e médio calibre, formando ateromas e, segundo Ferreira et al. (2003), os níveis de colesterol no plasma não dependem somente do conteúdo de colesterol, mas também do balanço entre os ácidos graxos saturados e ácidos graxos polinsaturados.

Segundo Gaspar (1995), salsichas elaboradas somente com carnes suínas geralmente contêm 30 a 40% de gordura. Se observarmos o teor de gordura saturada do toucinho (41 %), da carne suína (44 %) e o óleo de girassol (14 %), podemos concluir que os produtos de origem animal apresentam um teor de gordura saturada de 33 % a mais que o óleo de girassol. A quantidade de gordura e colesterol ingeridos através dos alimentos, principalmente produtos cárneos, tem sido motivo de atenção para muitos consumidores preocupados com a saúde. Atualmente os consumidores não estão somente interessados no sabor dos produtos e se os mesmos apresentam aspectos convenientes, a preocupação destes indivíduos está pautada também no perfil saudável, nutritivo e de segurança que estes alimentos são capazes de proporcionar.

A gordura saturada é considerada a causa primária de hipercolesterolemia. Produtos oxidados do colesterol têm também efeitos adversos relacionados com a saúde humana (ADDIS, 1986; MAERKER, 1987).

A aparente relação entre uma dieta alimentar rica em gorduras saturadas e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e hipertensão tem levado as pessoas a serem mais conscientes em relação aos alimentos que consomem diariamente (O'NEIL, 1993, apud CREHAN et al., 2000).

Pietrasik e Duda (2000) afirmam que é necessário alterar as formulações dos produtos cominuídos, como salsichas, que possuem elevado teor de gordura saturada (40 %), para poder atender a crescente quantidade de consumidores que procuram alimentos mais saudáveis. Ao contrário das gorduras saturadas e polinsaturadas, as dietas com elevado nível de gordura monoinsaturada têm sido associadas a redução das doença coronarianas. A prevalência de doenças do coração é relativamente baixa em áreas da região

do mediterrâneo, nas quais as dietas possuem grande quantidade de gorduras monoinsaturadas. Assim que, a incorporação de gorduras monoinsaturadas em produtos cárneos, tem um efeito positivo na saúde do consumidor (BLOUKAS e PANERAS, 1993).

St. John (1986) aumentou a proporção de ácidos graxos monoinsaturados e saturados em salsichas com baixo teor de gordura usando carne magra e com elevado teor de gordura originária de suínos alimentados com altos níveis de óleo de canola contendo 64 % de ácido oléico. Os produtos com teor calórico e gordura reduzidos se mantiveram em níveis aceitáveis de consumo.

Park; Rhee e Ziprim (1990) reportam que as propriedades sensoriais de salsichas tipo Frankfurt com baixo teor de gordura, fabricadas com a incorporação direta de óleo de girassol com alto nível de ácido oléico (fonte de gordura monoinsaturada) apresentaram níveis aceitáveis de qualidade, sem efeitos adversos no rendimento do processo. Os autores relatam que a gordura foi substituída por água, sem prejuízos na textura do produto.

A gordura que deverá compor os produtos preparados requer cuidados especiais de classificação, tendo em vista não apenas seu estado de conservação, mas também sua cor, odor, sabor e consistência, características que variam conforme a espécie, raça, idade, alimentação, grau de engorda e estado geral do animal. O teor de tecido conjuntivo é variável na gordura (2-10 %). A consistência das gorduras varia de acordo com os ácidos graxos que entram na sua composição. Quanto maior a consistência, maior a dificuldade de digestão. As gorduras ricas em ácidos graxos insaturados estão sujeitas a diversas alterações e devem receber cuidados especiais de higiene durante a manipulação e acondicionamento e, em especial, a conservação dos produtos finais. Os acúmulos gordurosos de diversas origens diferem em sua estrutura e

composição. De um modo geral, as gorduras acumuladas são caracterizadas pelas de cobertura ou subcutâneas, pela inguinal e pelas cavitárias ou viscerais, como a perirenal, a mesentérica e a mediastínica. As gorduras de acúmulo, depois de fundidas, são mais utilizadas em culinária, mas algumas, como as de suínos, são utilizadas em salsicharia, na forma cominuída, com a massa muscular aderida ou em frações (PARDI et al., 1995).

Lin e Chao (2001) avaliaram as características microbiológicas e físico-químicas de salsichas (tipo chinesas) com baixo teor de gordura (22 %), contendo 0,1 % quitosana solubilizada em ácido láctico a 1 % (pH 2,84) e caracterizada por vários pesos moleculares; 150 kDa (baixo peso molecular), 600 kDa e 1.250 kDa (alto peso molecular). O pH final da quitosana solubilizada no ácido láctico foi 3,94. Salsicha tipo chinesa é um dos mais tradicionais produtos de consumo (disponíveis em supermercado) devido ao sabor específico de produto curado. Entretanto, a aceitação por parte do consumidor deste tipo de produto tem diminuído devido ao alto teor de gordura (28 a 30 %). Os ingredientes (não cárneos) adicionados compreenderam: 8 % dextrose, 1,5 % cloreto sódio, 1,0 % glutamato monossódico, 0,012 % nitrito de sódio, 0,05 % eritorbato de sódio, 0,15 % tripolifosfato de sódio e 10 % água. As quitosanas com peso molecular 150 e 600 kDa possuíam grau de desacetilação equivalente a 85 % e a de maior peso molecular (1250 kDa), 86,6 %. As salsichas após os tratamentos com os três tipos de quitosana (diferentes pesos moleculares) foram estocadas durante 9 semanas. A contagem total de bactérias mesófilas aeróbias viáveis e bactérias lácticas aumentaram ligeiramente em todos os tratamentos até o final da estocagem. A contagem total de bactérias mesófilas não ultrapassou 7 log UFC g<sup>-1</sup> no final das 9 semanas de estocagem. O resultado da avaliação sensorial mostrou que

as salsichas elaboradas com quitosana com peso molecular de 150 e 600 kDa tiveram maior aceitabilidade. Ficou demonstrado também que, a adição de quitosana para a redução da gordura não apresentou resultados significativos relacionados com a variação de textura. A incorporação de 0,1 % quitosana, com vários pesos moleculares, na formulação de salsichas tipo chinesas com baixo teor de gordura, não resultou em diferenças significativas relacionadas com as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais, principalmente com relação ao atributo textura. Estes pesquisadores concluíram que há necessidade de novas pesquisas relacionadas com a aplicação da quitosana e seus efeitos em produtos cárneos, entretanto, o estudo desenvolvido serve de base para novas pesquisas relacionadas com a utilização da quitosana como aditivo alimentar com elevado grau de segurança alimentar.

Conforme Sadler (2004), existe um crescimento e contínuas oportunidades para o desenvolvimento e utilização de aditivos e ingredientes para a melhoria da qualidade da carne e seus derivados. Com o contínuo desenvolvimento tecnológico, este setor proporciona a descoberta de novos ingredientes para serem utilizados como alternativas na elaboração de produtos derivados de carne.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL

As amostras de rações para os ensaios biológicos, na quantidade de 21 kg, foram elaboradas a partir de salsichas produzidas com carne bovina (recortes de dianteiro) adquirida de estabelecimentos locais (Florianópolis-SC). A gordura aparente, aponevroses e coágulos sangüíneos foram removidos de forma a se obter músculos com baixo teor de gordura (2,3 %) e a carne resultante foi moída em moedor CAF-8 (Ø disco 8 mm), embalada em filme de polietileno e congelada a -18°C durante 7 dias.

A quitosana foi obtida por tratamento alcalino (desacetilação) a partir da quitina oriunda de crustáceos tratada por desproteínização alcalina e desmineralização ácida, segundo metodologias desenvolvidas por Broussinac (1968) e Gildberg e Stenberg (2001).

A quitosana obtida foi avaliada para caracterização do grau de desacetilação (%), viscosidade, minerais, nitrogênio total e granulometria (BROUSSINAC, 1968; AOAC, 1999).

Os aditivos utilizados na elaboração das salsichas (base para a produção das rações) foram fornecidos por Duas Rodas Industrial Ltda/SC. A tabela 8 apresenta a formulação da massa de salsicha utilizada no ensaio biológico. Os ingredientes utilizados, como celulose (tipo microfina), amido de milho, amido dextrinizado, sacarose e caseína láctea (Anexos A, B, C e D) foram adquiridos da Rhooster Indústria e Comércio Ltda./SP.

**Tabela 8 – Formulação da massa de salsicha frankfurt  
utilizada no ensaio biológico.**

| <b>Componente</b>                                   | <b>Quantidade % (p/p)</b> |
|---|---------------------------|
| Recortes de carne bovina (dianteiro; 2,3 % gordura) | 60,0                      |
| Gelo  | 35,0                      |
| Amido de milho                                      | 2,0                       |
| Cloreto de sódio                                    | 1,0                       |
| Condimento misto para salsicha                      | 0,5                       |
| Tripolifosfato de sódio                             | 0,3                       |
| Bitartarato de colina (41,1% colina)                | 0,25                      |
| Eritorbato de sódio                                 | 300 ppm                   |
| Nitrito de sódio                                    | 150 ppm                   |

Para o tratamento controle (C) dos ensaios biológicos foi utilizada a dieta AIN-93M para manutenção dos roedores adultos (tabela 9) conforme orientação do Committee Report – AIN - American Institute of Nutrition (REEVES; NIELSEN; FAHEI, 1993).

**Tabela 9 – Dieta AIN – 93M para manutenção de roedores adultos.**

| <b>Componentes</b>                   | <b>Quantidades (g/kg ração)</b> |
|--------------------------------------|---------------------------------|
| Dextrina de milho (90-94%)           | 155.000                         |
| Sacarose                             | 100.000                         |
| Óleo de soja                         | 40.000                          |
| Fibra                                | 50.000                          |
| Mix de minerais (AIN-93M-MX)         | 35.000                          |
| Mix de vitaminas (AIN-93-VX)         | 10.000                          |
| L-cistina                            | 1.800                           |
| Bitartarato de colina (41,1% colina) | 2.500                           |
| Tert-butilhidroquinona               | 0.008                           |

Fonte: American Institute of Nutrition, (REEVES; NIELSEN; FAHEI, 1993).

## **3.2 MÉTODOS**

### **3.2.1 Delineamento experimental do ensaio biológico**

As amostras de salsichas, conforme formulação apresentada na tabela 8 (página 52) foram divididas em 3 frações antes da adição da celulose e da quitosana. Na primeira fração (SC) foi adicionada celulose, como fonte de fibra, sobre a massa até completa homogeneização. Na segunda fração (SQ) foi adicionada a quitosana por meio da distribuição sobre a massa formulada. Na terceira fração (SQA), a quitosana foi previamente solubilizada em ácido láctico 1 % (pH 3.9) conforme proposto por Lin e Chao (2001) e adicionada à massa. As frações SC, SQ e SQA foram formuladas por três vezes (3 x 3) com total de 9 tratamentos. Os tratamentos foram constituídos por: dieta AIN-93M (C), tratamento com adição direta de 5% celulose (SC), tratamento com adição direta de 5% quitosana à massa (SQ) e tratamento com adição de 5% quitosana previamente solubilizada em ácido láctico (SQA).

#### **3.2.1.1 Produção das salsichas (base para formulação das rações)**

Os recortes de carne bovina sem gordura aparente e mantidos sob congelamento a -18 °C, foram transferidos para a câmara de refrigeração (5°C ± 1°C) até atingirem a temperatura de -2°C, necessária para o processamento. Após a mistura da carne com os ingredientes de cura (cloreto de sódio, tripolifosfato de sódio, nitrito de sódio) e gelo (50 %), a massa foi processada (cominuição) em *cutter* por 1 minuto.

Posteriormente, foram adicionados os aditivos e ingredientes, eritorbato de sódio, condimento misto e o amido de milho, simultaneamente com o restante do gelo (50 %). A seguir, a massa foi novamente homogeneizada (*cutter*) por mais 1 minuto.

Após homogeneização, a massa foi fracionada em 3 porções e, a cada porção (SC, SQ e SQA) foram adicionadas celulose, quitosana (não solubilizada em ácido) e quitosana previamente solubilizada em ácido láctico. A seguir, cada porção foi emulsificada, até durante 5 minutos com a temperatura não excedendo a 12°C.

As massas foram embutidas em tripa celulósica e pasteurizadas a 80°C em banho-maria até atingir 72°C (temperatura interna das peças). As salsichas cozidas foram resfriadas com água e estocadas a 4°C durante 8 horas. Posteriormente, foi removido o filme artificial e as porções foram cominutadas em *cutter*. A seguir, foi efetuada uma desidratação a 50°C em estufa com ar circulante, durante 12 horas. Imediatamente foram avaliados os teores de umidade, proteína, lipídios, carboidratos e sais minerais de acordo com os métodos da AOAC (1999) com o objetivo de ajustar as composições das porções formuladas.

As frações SC, SQ e SQA tiveram, então, suas composições ajustadas para a obtenção de rações isocalóricas com iguais percentuais de carboidratos, lipídios, proteínas e fibras através da adição de dextrina, amido de milho, caseína, celulose ou quitosana, conforme dieta estabelecida para roedores AIN-93M (tabela 9 – página 52).

### 3.2.1.2 Ensaio biológico - Aplicação do experimento

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa e desenvolvido no Laboratório de Experimentação Animal da UNIVALI-SC de acordo com AOAC (43.253-43.256, 1998). Foram utilizados 32 ratos machos adultos da espécie Wistar (*Rattus nooverious*), pesando aproximadamente 200-250 g e alojados em gaiolas metabólicas de aço inoxidável em ambiente climatizado ( $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), com ciclos de luminosidade (claro/escuro) – 12h/12h (KANAUCHI et al., 1994).

Os ratos foram alimentados *ad libitum* com uma dieta comercial por 3 dias e, então, separados em gaiolas, individualmente e ordenados aleatoriamente em 4 diferentes grupos ( $n = 8$ ). Os grupos, assim formados, receberam como alimento as rações AIN-93M (C), salsichas com celulose (SC), salsichas com quitosana (SQ) e salsichas com quitosana pré-solubilizada em ácido láctico (SQA). Durante o período experimental, cada animal teve livre acesso ao alimento e a água potável. Na fase inicial, intermediária e final, cada animal foi submetido a punção cardíaca usando agulhas com seringa de 3 mL em tubo heparinizado. O plasma foi separado por centrifugação a 5.000 rpm por 10 minutos e determinadas as concentrações utilizando o sistema enzimático padronizado para colesterol (Lolestat-enzimatic AA), triglicerídios (TG color-GPO/PAP AA) e colesterol HDL (HDL LE, Labtest-Diagnostica).

A concentração de colesterol LDL foi calculada pela seguinte fórmula:  $\text{LDL-colesterol} = \text{colesterol total} - \text{HDL-colesterol} - \text{triglicerídios}/5$  (SBC, 2001).

O consumo de ração foi registrado individual e diariamente. O peso dos animais foi mensurado semanalmente durante o experimento e, ao final, foram sacrificados de acordo com as Normas Internacionais para Pesquisas

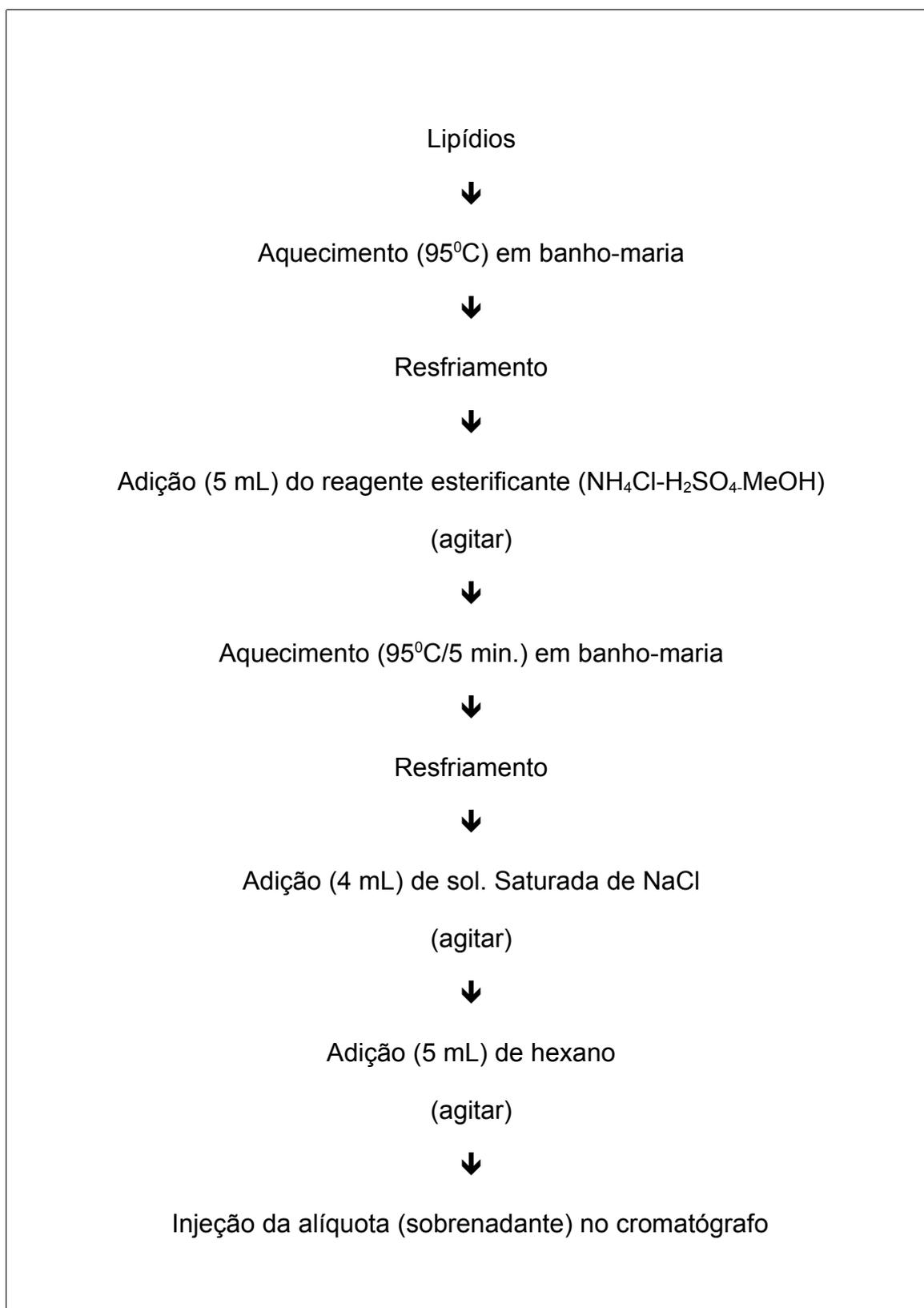
Biomédicas com Animais (GOLDIM; PAN, 1997). Foi procedido, a seguir, a extração do fígado e posterior pesagem.

As fezes foram coletadas, dessecadas e congeladas para a quantificação gravimétrica do conteúdo lipídico por extração com solvente (éter etílico: éter de petróleo - 1:1 v/v) sob refluxo por 4 horas (AOAC, método n° 13.033, 1988). A composição dos ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa (GLC). A digestibilidade aparente (%) foi avaliada de acordo com a seguinte formulação:  $[(\text{gordura ingerida} - \text{gordura fecal})/\text{gordura ingerida}] \times 100$ .

### **3.2.1.3 Determinação dos ácidos graxos**

Os lipídios foram extraídos das rações e das fezes dos animais de cada grupo (AOAC, método n° 13.033, 2000). As fezes foram coletadas por 4 dias consecutivos (período intermediário do experimento).

Após extração, os lipídios foram metilados e esterificados segundo Maia e Rodriguez-Amaya (1993), conforme procedimento representado na figura 2.



Fonte: Maia e Rodriguez-Amaya, 1993.

**Figura 2 - Derivatização dos ácidos graxos.**

A seguir, os ésteres metílicos foram acondicionados em tubos de ensaio, com atmosfera de nitrogênio, congelados a  $-18^{\circ}\text{C}$  e, imediatamente enviados ao Laboratório de Óleos e Gorduras da Universidade de Campinas – UNICAMP para posterior identificação das frações lipídicas (ácidos graxos). A identificação dos ácidos graxos foi realizada em comparação aos tempos de retenção do padrão nº 87/Nuchek, nas mesmas condições das amostras. O equipamento utilizado foi o Cromatógrafo Gasoso Capilar CGC, Agilent 6850, séries GC System - Coluna capilar DB-23 AGILENT (50 % cyanopropyl – methylpolsiloxane) com dimensões de 60 m, fit:0,25 mm, 0,25 mm de filme. As condições de operação do cromatógrafo foram:  $195^{\circ}\text{C}/20$  min.;  $195$  a  $215^{\circ}\text{C}$  com um gradiente de temperatura de  $5^{\circ}\text{C}$  por minuto;  $215^{\circ}\text{C}/16$  min. Temperatura do detector a  $280^{\circ}\text{C}$ ; temperatura do injetor a  $250^{\circ}\text{C}$  - Gás de arraste hélio; *Split*:1:50, detector FID. Sistema de integração através do Software HPChem da Agilent.

#### **3.2.1.4 Espectrometria de ressonância magnética nuclear de hidrogênio ( $^1\text{H}$ -RMN)**

Extração da fração lipídica das fezes: amostras (1 g – peso seco) de fezes foram maceradas em gral e pistilo, na presença de 5 mL de solução de metanol:clorofórmio (1:1). O extrato organosolvente foi filtrado em funil sinterizado, sob vácuo, e concentrado em evaporador rotativo até a remoção total dos solventes. O resíduo foi ressuspensão em clorofórmio ( $\sim 1$  mL) para recuperação da fração lipídica, seguido da transferência para eppendorf, onde o solvente foi removido sob jato de  $\text{N}_2$ . A fração organosolvente foi

ressuspensa em 700  $\mu\text{L}$  de  $\text{CDCl}_3$  para posterior análise por espectrometria de ressonância magnética nuclear.

Espectrometria de ressonância magnética nuclear de hidrogênio: os espectros  $^1\text{H}$ -RMN (Apêndice F) das frações clorofórmicas das fezes e rações foram obtidos em condição padrão, em equipamento Bruker AC 200, operando em 200 MHz de frequência de ressonância de hidrogênio, utilizando ácido trimetil-silil-propiónico (TMS – 10 mg/100 mL) como padrão interno, conforme descrito previamente (MARASCHIN, et al., 2001).

### **3.2.2. Delineamento experimental para a produção das salsichas frankfurter**

As massas de salsicha foram preparadas conforme formulação descrita na tabela 10. Esta formulação (base) foi dividida em 4 frações. A quitosana foi adicionada em 3 frações em nível de 0,1 % (**Q<sub>1</sub>**), 0,25 % (**Q<sub>2</sub>**) e 0,5 % (**Q<sub>3</sub>**). Uma das frações, sem quitosana, foi utilizada como controle (**C**). Os três tratamentos e o controle foram formulados por três vezes (3 x 4) com total de 12 tratamentos.

**Tabela 10 – Formulação da massa de salsicha frankfut (base) utilizadas para as análises do perfil de textura instrumental (TPA), perfil de textura sensorial, análises microbiológicas e físico-químicas.**

| <b>Componentes</b>             | <b>Quantidades % (p/p)</b> |
|--------------------------------|----------------------------|
| Gelo                           | 15,0                       |
| Toucinho                       | 5,0                        |
| Amido de milho                 | 2,0                        |
| Sal (NaCl)                     | 1,5                        |
| Condimento misto para salsicha | 0,5                        |
| Carragena                      | 0,3                        |
| Tripolifosfato de sódio        | 0,3                        |
| Eritorbato de sódio            | 300 ppm                    |
| Nitrito de sódio               | 150 ppm                    |

### **3.2.2.1 Produção das salsichas com quitosana**

A carne bovina desprovida da gordura aparente, aponevroses, coágulos sanguíneos e mantida sob congelamento a  $-18^{\circ}\text{C}$  foi transferida para câmara refrigerada ( $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) até alcançar a temperatura de  $-2^{\circ}\text{C}$  para o início do processamento. Após a mistura da carne com os ingredientes de cura (cloreto de sódio, tripolifosfato de sódio, nitrito de sódio) e 50 % gelo, foi processada a sua cominuição em *cutter* para homogeneização durante 1 minuto. Posteriormente, foram adicionados: carragena, eritorbato de sódio, condimento misto, toucinho e amido de milho, e o restante do gelo (50 %).

A massa foi homogeneizada por mais 1 minuto em *cutter* e imediatamente fracionada (4 porções). Uma das frações, sem adição de quitosana (controle C) foi mantida no *cutter*, em processamento, por mais 1 minuto. Nas outras três frações, a quitosana foi adicionada diretamente sobre a massa em nível de 0,10,

0,25 e 0,50 % (p/p) para os tratamentos Q1, Q2 e Q3, respectivamente. Cada tratamento, por ordem crescente de concentração de quitosana, foi emulsionada e homogeneizado por mais 5 minutos em *cutter*, com a temperatura final não excedendo a 12°C.

As massas, referentes aos tratamentos (C, Q1, Q2 e Q3) foram embutidas em tripa celulósica (Ø 22 mm). As salsichas foram amarradas manualmente com intervalos de 15 cm e processadas termicamente a 80°C (temperatura interna de 72°C). As salsichas cozidas foram resfriadas em água e conservadas a 4°C por 8 horas. Após a remoção do filme celulósico as peças de salsichas foram embaladas a vácuo e estocadas sob refrigeração a 4°C para as posteriores determinações analíticas.

### **3.2.2.2 Rendimento**

Para cada tratamento e controle, as salsichas produzidas foram pesadas antes e imediatamente após o cozimento e resfriamento. O rendimento (%) foi calculado de acordo com Osburn e Keeton (2004), ou seja: [% rendimento = (peso do produto cozido/peso do produto cru) x 100].

### **3.2.2.3 Composição físico-química**

A determinação da composição centesimal das salsichas foi realizada segundo métodos da AOAC: umidade (método nº 39.012/1999), lipídios (método nº 13.033/1998), proteínas (N x 6,25) (método nº 923.04/1998), resíduo mineral fixo (método nº 938.08/1998), pH (SHOTT GERATE Mod. CG 818) e, amido (LABORATÓRIO NACIONAL DE REFERÊNCIA ANIMAL - LANARA, 1981).

#### **3.2.2.4 Avaliação instrumental da textura**

Para a análise do perfil de textura instrumental (TPA – *Texture Profile Analysis*) foi utilizado texturômetro TA-XT2, marca SMS, operando com *Software Texture Expert*, com modo de operação TPA, velocidade de pré-teste 2,0 mm/s, velocidade teste de 2,0 mm/s e velocidade de pós-teste de 2,0 mm/s, tempo de 5 segundos, distância de 10 mm, com um *probe* cilíndrico de alumínio (P 50), amostras com o diâmetro original da salsicha (22 mm) e altura 25 mm. Todos os teste foram conduzidos em temperatura de ambiente, utilizando amostra refrigerada. O TPA consiste em comprimir uma porção do produto em dois ciclos consecutivos imitando a ação da mastigação para obtenção da curva de força-tempo e dos parâmetros relacionados com a textura, ou seja, firmeza (dureza), mastigabilidade, gomosidade, elasticidade e adesividade (Apêndice D).

#### **3.2.2.5 Avaliação sensorial da textura**

O perfil de textura sensorial das salsichas dos três tratamentos e controle foi efetuado por uma equipe previamente selecionada e treinada segundo a metodologia desenvolvida por Szczesniack (1963) e Civille e Szczesniack (1973), composta de sete julgadores em seis sessões de testes. Foi utilizada a escala estruturada de nove pontos, na qual números e palavras em cada extremo (0 = baixa e 9 = alta) expressam a intensidade dos atributos avaliados, que foram os seguintes: dureza e elasticidade como propriedades primárias e, fraturabilidade, mastigabilidade, adesividade, gomosidade e liberação de umidade como secundárias (CIVILLE; SZCZESNIACK, 1973;

MEILGAARD; CIVILLE; CAR, 1999). Os padrões estabelecidos para cada atributo de textura físico e sensorial estão definidos no Quadro1.

**Quadro 1 - Definição dos atributos do perfil de  
textura instrumental e sensorial.**

| PROPRIEDADES                  | FÍSICAS  | SENSORIAIS  |
|-------------------------------|--|---|
| <b>PRIMÁRIAS</b>              |  |   |
| <b>1 Dureza</b>               | Termo genérico que descreve a propriedade de um material sólido/semi-sólido de apresentar resistência à deformação.      | Força requerida para a compressão de uma substância entre os dentes (para sólidos) ou ente a língua e o palato (para semi-sólidos).                                   |
| <b>2 Elasticidade</b>         | Termo genérico que descreve a propriedade de um material sólido/semi-sólido de apresentar resistência à deformação.      | Grau com o qual um produto volta a sua forma original, depois da compressão dos dentes.   |
| <b>3 Coesividade</b>          | Resistência que o produto oferece para romper as suas ligações internas.   | Grau com o qual uma substância é comprimida entre os dentes antes de romper.  |
| <b>SECUNDÁRIAS</b>            |  |   |
| <b>4 Fraturabilidade</b>      | Força necessária para fraturar a estrutura do produto.   | Força com a qual uma amostra esmigalha, racha ou quebra em pedaços.   |
| <b>5 Gomosidade</b>           | Energia requerida para desintegrar um produto sólido.  | Energia requerida para desintegrar um alimento semi-sólido ao ponto ideal de deglutição. Densidade que persiste durante a mastigação.                                 |
| <b>6 Mastigabilidade</b>      | Energia requerida para desintegrar um produto sólido; calculado como a resultante do valor de firmeza versus gomosidade. | Tempo (segundos) requerido para mastigar uma amostra, a uma velocidade constante de aplicação de força, para reduzi-la a uma consistência adequada para a deglutição. |
| <b>7 Liberação de umidade</b> | —  | Quantidade de umidade que é liberada da amostra   |

Fonte: Meilgaard; Civille e Car, 1999.

### 3.2.2.6 Análises microbiológicas

As salsichas controle e com quitosana foram avaliadas conforme metodologia preconizada pela APHA (2001).

### 3.2.2.6.1 Amostragem

Foram utilizadas amostras com 40 g, por tratamento, avaliadas triplicatas. De maneira asséptica, 25 g das amostras foram homogeneizadas, durante 2 minutos em 225 mL de solução de água peptonada 0,1 % ( $10^{-1}$ ) utilizando o Stomacher. Foram executadas homogeneizações uniformes com a menor aeração possível. Utilizando a diluição 1:10, foi realizada uma série de diluições sucessivas de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ . Cada diluição foi adequadamente agitada antes de cada transferência. Para a detecção de *Salmonella* spp. foi utilizada 25 g da amostra, adicionada diretamente ao caldo de pré-enriquecimento. As avaliações foram efetuadas em triplicata para cada tratamento (APHA, 2001).

### 3.2.2.6.2 Determinação de coliformes a 45°C

Foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP), indicada para a detecção de baixas concentrações de coliformes e por apresentar maior sensibilidade do que os métodos de plaqueamento. No teste foi avaliada a fermentação da lactose. Como meio de cultura foi utilizado o Lauryl Sulfate Broth – LSB (MERCK – Art. nº 10266). Este meio oferece como fonte de carbono apenas a lactose, a qual é fermentada com produção de ácido e gás, que é evidenciado no tubo de Durhan. O meio contém, ainda, o reagente lauril sulfato, que inibe o crescimento da microbiota acompanhante. A incubação foi feita a 37°C por 24/48 horas. Para o teste confirmativo foi utilizado o meio seletivo EC Broth (MERCK – Art. nº 10765), com incubação a 45°C por 24 horas (APHA, 2001).

### **3.2.2.6.3 Contagem de *Staphylococcus coagulase positivo***

Como meio seletivo para a contagem foi utilizado o meio Baird-Parker Agar (MERCK – Art. n° 5406). O meio combina o telurito de potássio (0,01 %), glicina (1,2 %) e o cloreto de lítio (0,5 %) como agentes seletivos e, a redução do telurito e a hidrólise da gema de ovo, como características diferenciais. Adicionalmente, o meio contém 15 % de piruvato de sódio como agente reparador de células injuriadas. A contagem foi determinada por plaqueamento direto com espalhamento do inóculo com o auxílio da alça de Drigalsky, inversão e incubação das placas a 37°C por 48 horas. Foram enumeradas todas as colônias de estafilococos presuntivos (típicas e atípicas). Posteriormente, colônias características foram replicadas no caldo de enriquecimento Brain Heart Infusion – BHI (OXOID – CM 255). O meio foi incubado a 37°C por 24 horas. A confirmação das colônias típicas foi bioquimicamente comprovada através da produção de coagulase com plasma de coelho (incubação a 37°C por 1-4 horas), reação de termorresistência em meio D'NAse (100°C por 15 minutos) e presença da catalase pelo desdobramento de peróxido de hidrogênio. O cálculo dos resultados considerou como culturas positivas, aquelas que apresentaram reações de coagulase, termonuclease e catalase (APHA, 2001).

### **3.2.2.6.4 Detecção de *Salmonella* spp.**

A técnica de análise foi executada através do pré-enriquecimento de 25 g da amostra por diluição em 225 mL de Lactose Broth (MERCK – Art. n° 7661). O meio inoculado foi incubado a 37°C por 24 horas. A seguir foi

realizado o enriquecimento seletivo; alíquotas correspondentes a uma alçada foram inoculadas em Selenite Cystine Broth – SC Broth (MERCK – Art. n° 7709) e em Tetrathionate Enrichment Broth – TTB (MERCK – Art. n° 5285). Os meios foram incubados a 42°C em banho-maria por 24 horas.

A partir do enriquecimento seletivo foram feitas estrias com o auxílio de alça de Henly, no Hektoen Enteric Agar (MERCK – ART. n° 11681). Após incubação a 37°C por 24 horas, colônias de coloração azul ou verde, com ou sem centro escuro, foram consideradas como presuntiva para *Salmonella* spp. Após o plaqueamento seletivo, foi realizada a identificação bioquímica das colônias típicas em Triple Sugar Iron Agar – TSI Agar (MERCK – Art. n° 3915) e em lysin Iron Agar – LIA (MERCK – Art. n° 11640) a 37°C por 24 horas (APHA, 2001).

#### **3.2.2.6.5 Contagem de clostrídios sulfito redutores**

A contagem em placas foi determinada utilizando diluições sucessivas a partir de  $10^{-1}$  e até  $10^{-6}$  em ágar CST (tryptose-sulfite-cycloserine). Cada diluição foi completamente agitada antes de cada transferência de inóculo. O ágar CST foi espalhado uniformemente nas placas de Petry e deixado solidificar para receber o inóculo (1 mL). Após a adição de uma sobre-camada do ágar CST, as placas foram incubadas sob anaerobiose durante 24 horas a 35°C. Foram contadas todas as colônias com coloração escura que apresentaram um halo branco opaco ao redor (atuação da lecitinase) (APHA, 2001).

### **3.2.3 Análise estatística**

A avaliação dos dados físico-químicos, sensoriais e microbiológicos foi efetuada por Análise de Variância (ANOVA) e aplicação do teste de Tuckey para a comparação das médias e teste de Dunnett para a comparação da amostra controle (C) em relação aos outros tratamentos (Q1, Q2 e Q3), ao nível de 5 % com a utilização do programa “Statistica V.6”.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Ensaio biológico

#### 4.1.1 Consumo alimentar e ganho de peso

A tabela 11 apresenta o consumo médio alimentar das dietas compostas por salsichas com celulose (SC) e salsichas com quitosana pré-solubilizadas em ácido láctico (SQA), as quais não diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) entre si e, também, quando comparadas com a dieta controle AIN-93M (C). O consumo médio da dieta salsicha com quitosana (SQ) foi significativamente superior a C e SQA e não diferiu em relação a SC.

**Tabela 11 - Consumo alimentar diário por grupo de animais nas diferentes dietas.**

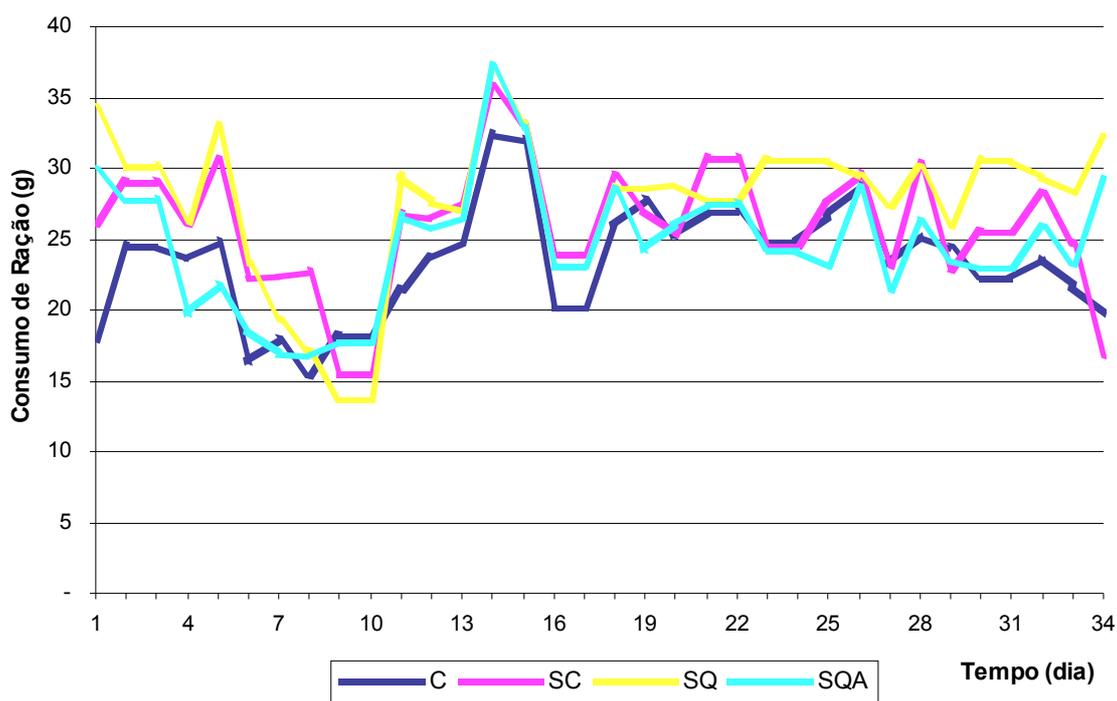
| <b>Tratamentos</b> | <b>Consumo de ração (g)</b> |
|--------------------|-----------------------------|
| C                  | 23,40 ± 6,19 a              |
| SC                 | 25,96 ± 6,93 ab             |
| SQ                 | 27,58 ± 7,56 b              |
| SQA                | 24,66 ± 6,79 a              |

C = dieta controle AIN-93M, SC = dieta com salsichas e 5 % de celulose, SQ = dieta com salsichas e 5 % de quitosana; SQA = dieta com salsichas e 5 % de quitosana pré solubilizada em ácido láctico. Médias nas colunas com letras diferentes são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) ANOVA.

Junnings, et al., (1988) não encontraram diferenças no consumo da dieta controle em relação às dietas com 5 % de quitosana e com 5 % de celulose. No entanto relataram, que a dieta com quitosana foi significativamente superior à suplementada com aveia e inferior a dieta com

cholestyramine®. Fukada, Kimura e Ayaky (1991) não encontraram diferenças no consumo alimentar entre dietas controle e suplementada com 5 % de quitosana em experimentação biológica com ratos por 21 dias.

A figura 3 mostra a variação do consumo alimentar médio de ração para as diferentes dietas no decorrer do experimento. As variações verificadas foram de 15 a 37 g por dia para cada grupo de animais (Apêndice A), porém o consumo alimentar foi superior para os tratamentos SC e SQ no período inicial do experimento. No intermediário ocorreu um equilíbrio no consumo para as 4 dietas, e no período final foi superior, estatisticamente ( $p < 0,05$ ), para a SQ e SQA em relação a C e SC.



**Figura 3 - Consumo alimentar diário por grupo de animais nas diferentes dietas durante o experimento.**

Os dados apresentados na tabela 12 mostram o peso médio por grupo de animais, no decorrer de 34 dias de consumo das dietas.

**Tabela 12 - Peso médio dos animais submetidos às diferentes dietas durante 34 dias de experimento.**

| Tempo (dias) | Peso (g)       |                |                |                |
|--------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|              | Tratamentos    |                |                |                |
|              | C              | SC             | SQ             | SQA            |
| 0            | 262,13 ± 16,32 | 243,71 ± 23,51 | 247,43 ± 19,96 | 262,50 ± 20,25 |
| 7            | 267,75 ± 16,01 | 251,43 ± 39,26 | 270,86 ± 08,84 | 267,63 ± 12,36 |
| 14           | 280,25 ± 25,98 | 261,86 ± 54,39 | 274,57 ± 09,22 | 282,38 ± 28,49 |
| 21           | 299,13 ± 21,32 | 273,29 ± 35,79 | 281,43 ± 21,49 | 294,38 ± 28,24 |
| 28           | 318,38 ± 25,21 | 298,43 ± 42,63 | 309,00 ± 12,17 | 311,13 ± 24,81 |
| 34           | 362,00 ± 20,62 | 300,00 ± 41,69 | 317,29 ± 09,53 | 312,38 ± 29,98 |

C = dieta controle, SC = dieta com salsichas e 5 % de celulose, SQ = dieta com salsichas e 5 % de quitosana;  
SQA = dieta com salsichas e 5 % de quitosana pré solubilizada em ácido láctico.

Ao final deste período o tratamento com a dieta SQA, contendo quitosana pré-solubilizada em ácido láctico apresentou ganho de peso inferior (49,88 g), quando comparado aos demais grupos, e os maiores ganhos de peso foram observados nos tratamentos SQ (69,86 g) e controle (63,87 g), porém essa diferenças não são estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ).

Em experimentos com hamsters alimentados com dieta contendo quitosana, Trautwein, Jügensen e Erbersdobler (1997) constataram que estes animais apresentaram ganho de peso inferior, quando comparados com os alimentados com a dieta controle. Kanauchi, et al. (1994) mostraram, em estudos com ratos, que o ganho de peso também foi inferior para os animais alimentados com dietas suplementadas com quitosana em relação a dieta controle com celulose.

Gallaher, et al. (2000) em experimentação biológica com ratos, descreveram menor ganho de peso na primeira semana, para os animais alimentados com dieta contendo 10 % de quitosana em relação ao controle. Ao final da primeira semana, reduziram para 7,5 % de quitosana devido à baixa ingestão dos animais. No entanto, relataram que o ganho de peso significativamente menor persistiu e estava relacionado a uma redução significativa do consumo desta dieta contendo quitosana, até o final do experimento.

Neste experimento, comparando as salsichas suplementadas com quitosana, podemos observar na figura 4 que os animais apresentaram ganhos de peso diferentes, tanto entre os tratamentos SC, SQ e SQA, quanto em relação ao controle.

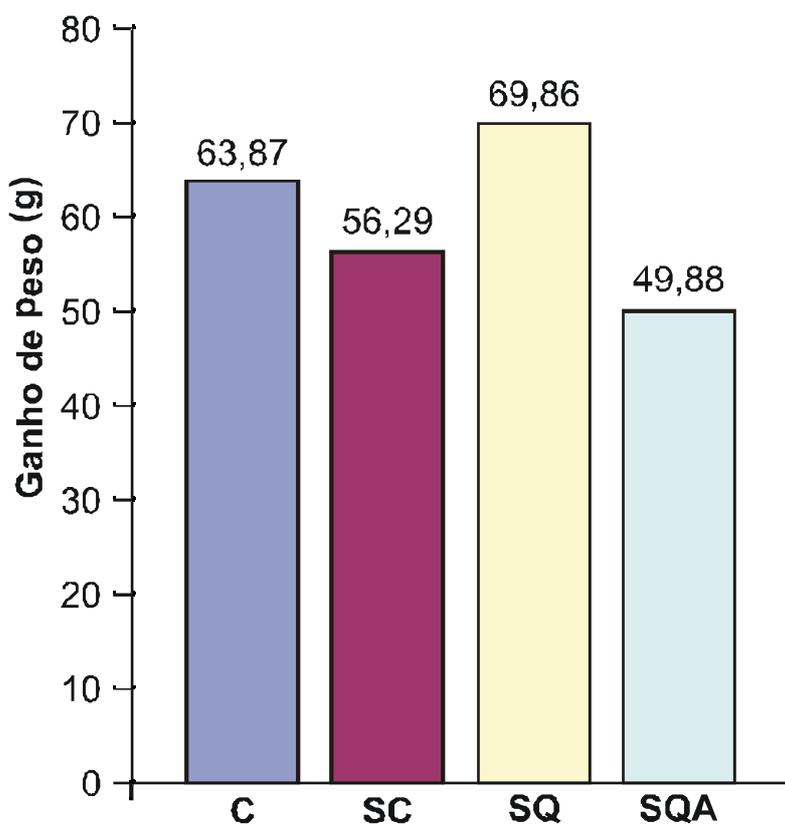
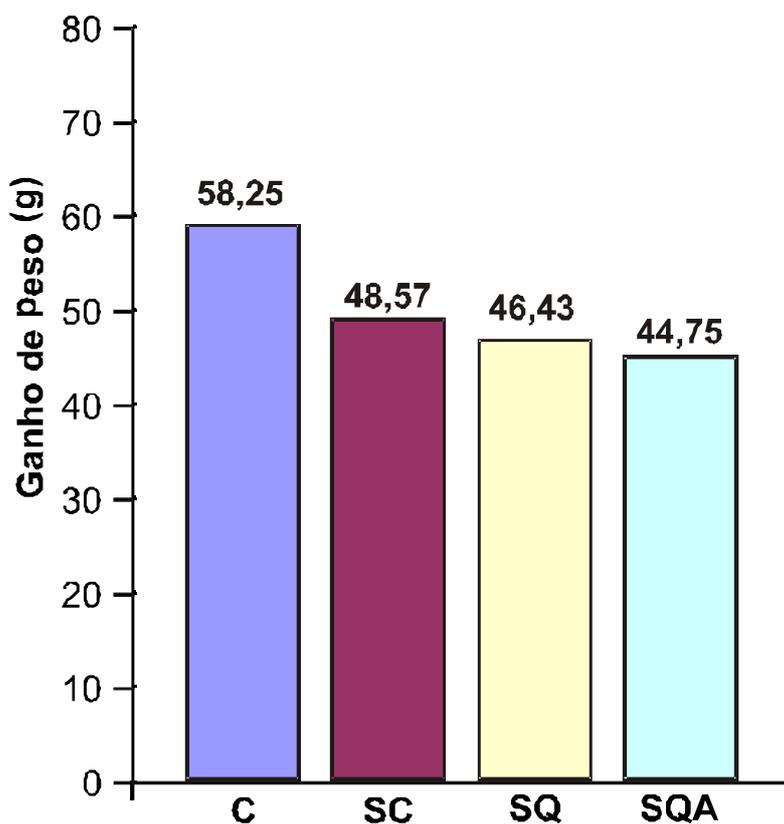


Figura 4 - Ganho de peso dos animais entre a 1ª e a 5ª semana do ensaio biológico.

Porém os resultados, apesar de não serem significativos em relação ao controle ( $p < 0,05$ ) indicam que o consumo alimentar médio pode estar diretamente relacionado ao ganho de peso, principalmente para o tratamento com a dieta SQ.

Comparando os valores de ganho de peso mostrados na figura 5, representando o peso dos animais a partir do primeiro dia da segunda semana e no transcorrer do experimento, para as quatro dietas estudadas, observa-se que os resultados foram significativos ( $p < 0,05$ ) para as dietas contendo quitosana (SQ e SQA) em relação ao controle.



**Figura 5 - Ganho de peso dos animais entre a 2ª e a 5ª semana do ensaio biológico.**

Estes resultados indicam que as diferenças no ganho de peso entre os tratamentos e a dieta controle, provavelmente estejam relacionados à adaptação dos animais às novas dietas, com um ganho de peso superior na primeira semana, para o tratamento SQ.

#### 4.1.2 Digestibilidade aparente da gordura

A digestibilidade aparente da gordura expressa a diferença entre a quantidade de gordura ingerida contida nas dietas e a quantidade de gordura excretada presente nas fezes. A tabela 13 mostra os percentuais para a digestibilidade das gorduras nas diferentes dietas.

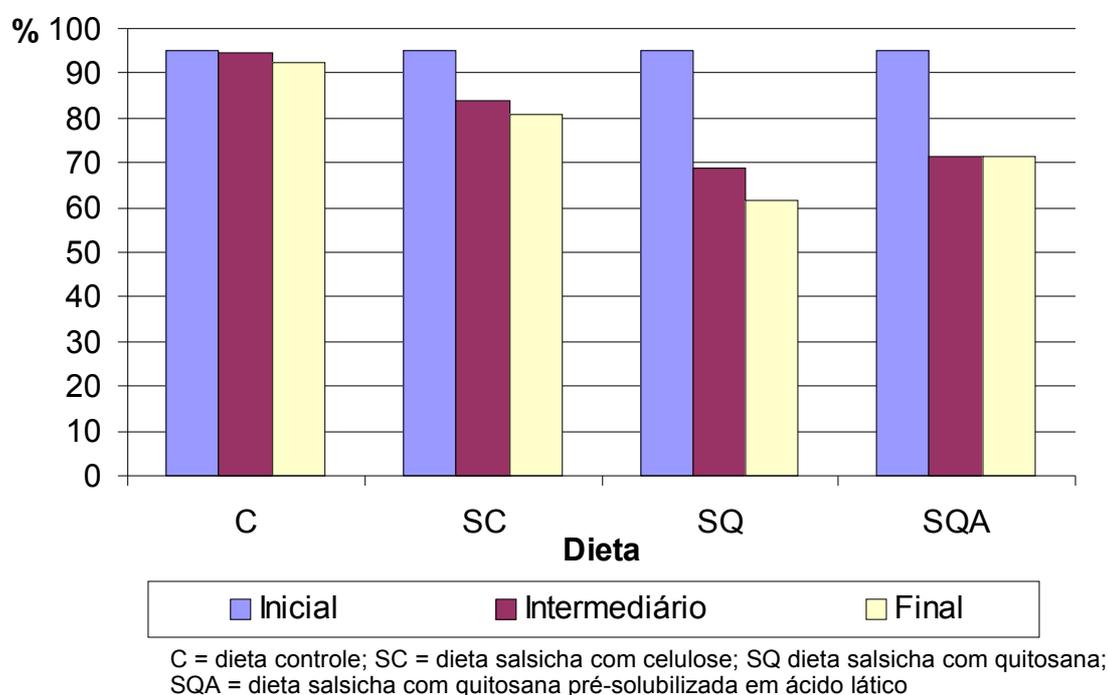
**Tabela 13 - Digestibilidade aparente da gordura (%) nas dietas nos diferentes períodos estudados.**

| Dietas | Período |               |       |
|--------|---------|---------------|-------|
|        | Inicial | Intermediário | Final |
| C      | 95,22   | 94,78         | 92,24 |
| SC     | 95,22   | 83,28         | 80,86 |
| SQ     | 95,22   | 68,91         | 61,43 |
| SQA    | 95,22   | 71,50         | 71,22 |

C = dieta controle, SC = dieta salsicha com 5 %celulose, SQ = dieta salsicha com 5 % quitosana; SQA = dieta com 5 % de quitosana pré-solubilizada em ácido láctico.  
n=4 para dietas SC, SQ e SQA: n=15 para dieta C.

Os dados mostram que a digestibilidade foi inferior para a dieta SQA em relação a controle, assim como a dieta SQ apresentou valores ainda menores em relação a SQA e ambas foram inferiores à dieta controle e SC. Observa-se também que os valores foram inferiores, porém semelhantes no período intermediário e final do experimento.

Kanauchi, et al. (1994) determinaram a digestibilidade aparente da gordura em ratos alimentados com dietas controle com 5 % de celulose e suplementada com 5 % de quitosana. A percentagem da digestibilidade relatada pelos autores para a dieta controle foi de 94,9 %, corroborando com os resultados encontrados no presente experimento. A digestibilidade para a dieta suplementada com quitosana, segundo os autores, foi de 52,1 %. A figura 6 representa a digestibilidade aparente da gordura determinadas neste trabalho.



**Figura 6 - Digestibilidade aparente da gordura (%) nas diferentes fases do ensaio biológico.**

Os valores, mostrados na figura 6, de 68,91 e 71,50 % para digestibilidade aparente da gordura no período intermediário e, 61,43 e 71,22 % ao final do experimento, para as respectivas dietas SQ e SQA, foram semelhantes, porém superiores em relação a 52,1 % determinada por Kanauchi, et al. (1994) em dieta suplementada com 5 % de quitosana. A absorção mais elevada da gordura ingerida, determinada neste experimento, pode ser explicada, provavelmente, pela utilização de quitosana com menor grau de desacetilação, 86 %, pois a usada pelos autores mencionados, apresentou um grau de desacetilação superior a 90 %. Jiang, Chen e Zhong (2003) destacam que o grau de desacetilação influencia química, física e biologicamente as propriedades da quitosana.

A quitosana apresenta forte interação com os lipídios através da combinação eletrostática e hidrofóbica entre o polieletrólito catiônico e os lipídios no intestino. Por esta razão, encapsula as partículas lipídicas carregadas negativamente no intestino e influencia sua absorção no trato intestinal (SCHULZ, 1998).

Os resultados obtidos indicam que, provavelmente, ocorreu uma relação direta entre a digestibilidade aparente das dietas SQ e SQA, com os ganhos de pesos dos animais neste experimento para os referidos tratamentos.

#### **4.1.3 Peso do fígado**

O peso médio do fígado por grupo de animais foi de 9,93 g para a dieta controle, 8,27 g para SC, 8,69 g para SQ e 8,54 g para SQA. A média registrada para o controle foi superior em relação aos demais tratamentos, porém não significativa ( $p < 0,05$ ). Kanauchi, et al. (1994) constataram um

aumento significativo no peso do fígado para dieta suplementada com colesterol em relação ao controle com celulose. No entanto, o peso do fígado foi menor para as dietas suplementadas com aveia e quitosana em relação ao controle. Neste experimento foram observados resultados semelhantes como o descrito pelos autores, com pesos médios do fígado dos animais, inferiores para as dietas com quitosana em relação ao controle.

#### 4.1.4 Perfil de ácidos graxos

A composição do perfil de ácidos graxos foi determinada nas frações lipídicas das 4 dietas C, SC, SQ e SQA e, também, nas fezes dos animais das respectivas dietas, no período intermediário deste experimento. A dieta controle apresentou um perfil de ácidos graxos saturados e insaturados (mono e polinsaturados), descritos na tabela 14, diferente dos percentuais da composição lipídica das dietas SC, SQ e SQA.

**Tabela 14 - Ácidos graxos saturados e insaturados nas dietas e excretados.**

| Ácidos Graxos (%) | TRATAMENTO |      |      |      |       |      |      |      |
|-------------------|------------|------|------|------|-------|------|------|------|
|                   | DIETAS     |      |      |      | FEZES |      |      |      |
|                   | C          | SC   | SQ   | SQA  | C     | SC   | SQ   | SQA  |
| <b>AGS</b>        | 19,3       | 49,0 | 45,1 | 42,7 | 58,5  | 59,0 | 56,1 | 64,9 |
| <b>AGI</b>        | 80,7       | 51,0 | 54,9 | 57,3 | 41,5  | 41,0 | 43,9 | 35,1 |
| <b>AGM</b>        | 22,4       | 40,4 | 39,7 | 38,5 | 25,6  | 29,2 | 29,1 | 22,7 |
| <b>AGP</b>        | 58,3       | 10,6 | 15,2 | 18,8 | 15,9  | 11,8 | 14,8 | 12,4 |
| <b>AGI/AGS</b>    | 4,2        | 1,0  | 1,2  | 1,3  | 0,7   | 0,7  | 0,8  | 0,5  |

AGS = ácido graxo saturado; AGI = ácido graxo insaturado, AGM = ácido graxo monoinsaturado; AGP = ácido graxo polinsaturado

Os ácidos graxos saturados (AGS) das dietas SC, SQ e SQA apresentaram percentuais semelhantes entre si, porém com valores bem superiores ao controle. Os ácidos graxos insaturados (AGI) nestas dietas apresentaram valores entre 51 a 57,3 %, portanto, inferiores ao da dieta controle, 80,7 % do total de insaturados. Ao se comparar a razão AGI / AGS, dos tratamentos, 4,2 (C), 1,0 (SC), 1,2 (SQ) e 1,3 (SQA) observa-se que houve variações na composição da fração lipídica das dietas.

A variação no perfil lipídico da dieta controle, foi decorrente do tipo de lipídio utilizado na formulação AIN-93M, exclusivamente óleo de soja (4 %). Com o objetivo de aproximar os perfis lipídicos das dietas nos tratamentos SC, SQ e SQA para elaboração da emulsão da massa de salsichas (matriz básica para os tratamentos), a gordura aparente da carne foi minuciosamente retirada. Ainda assim, com este procedimento, a participação da gordura proveniente da carne, foi de 1,5 % nas dietas SC, SQ e SQA. Foi adicionado óleo de soja a estas dietas (durante a produção das rações a base de salsichas) visando à equivalência no percentual de lipídios em relação à dieta controle AIN-93M e, também, com o objetivo de minimizar a diferença do perfil lipídico entre as dietas.

Ocorreu uma equivalência nos teores de AGS e AGI nas fezes excretadas, para o controle e os tratamentos SC e SQ, e diferente para as fezes dos animais alimentados com a dieta SQA que apresentaram uma excreção superior de AGI e inferior de AGS em relação as demais. O perfil de ácidos graxos estão representados na tabela 15.

Tabela 15 - Perfil de ácidos graxos nas dietas e excretados.

| Ácidos Graxos | Tratamento |       |       |        |           |       |       |       |
|---------------|------------|-------|-------|--------|-----------|-------|-------|-------|
|               | Dietas (%) |       |       |        | Fezes (%) |       |       |       |
|               | D C        | D SC  | D SQ  | R. SQA | F C       | F SC  | F SQ  | F SQA |
| <b>14:0</b>   | 0,1        | 2,5   | 2,3   | 2,0    | 0,9       | 1,6   | 1,7   | 1,5   |
| <b>14:1</b>   | ND         | 0,6   | 0,6   | 0,5    | 1,6       | 0,3   | 0,3   | 0,5   |
| <b>15:0</b>   | ND         | 0,5   | 0,5   | 0,5    | 2,8       | 0,5   | 0,7   | 0,8   |
| <b>16:0</b>   | 15,8       | 27,5  | 25,6  | 24,3   | 26,4      | 30,6  | 30,2  | 35,0  |
| <b>NI</b>     | 0,9        | 1,0   | 1,0   | 1,0    | 0,6       | 0,3   | 0,1   | 0,1   |
| <b>16:1</b>   | 0,2        | 1,6   | 1,5   | 1,5    | 0,6       | 0,7   | 1,0   | 0,7   |
| <b>NI</b>     | 0,1        | 0,4   | 0,4   | 0,4    | 0,6       | 0,7   | 0,6   | 0,7   |
| <b>16:2</b>   | ND         | 0,6   | 0,5   | 0,5    | 0,7       | 0,7   | 0,6   | 0,6   |
| <b>17:0</b>   | 0,1        | 1,2   | 1,1   | 1,0    | 1,0       | 1,0   | 1,3   | 1,6   |
| <b>NI</b>     | ND         | 0,6   | 0,6   | 0,6    | 1,0       | 0,5   | 0,5   | 0,3   |
| <b>18:0</b>   | 2,7        | 15,4  | 13,9  | 13,2   | 19,6      | 21,2  | 20,5  | 23,9  |
| <b>18:1</b>   | 21,5       | 36,6  | 36,1  | 35,4   | 13,2      | 27,4  | 27,0  | 20,9  |
| <b>18:2</b>   | 52,4       | 8,0   | 12,1  | 15,5   | 5,2       | 5,8   | 10,9  | 7,8   |
| <b>18:3</b>   | 4,4        | 0,4   | 1,0   | 1,2    | 2,8       | 0,3   | 0,6   | 0,4   |
| <b>20:0</b>   | 0,4        | 0,4   | 0,4   | 0,4    | 3,6       | 2,8   | 0,8   | 1,1   |
| <b>NI</b>     | ND         | 1,1   | 0,8   | 0,6    | 0,2       | 0,6   | 0,5   | 0,3   |
| <b>20:1</b>   | 0,5        | 0,3   | 0,4   | 0,2    | 0,2       | 0,2   | 0,2   | 0,3   |
| <b>20:2</b>   | 0,1        | 0,4   | 0,4   | 0,4    | 0,1       | 0,1   | ND    | ND    |
| <b>20:4</b>   | 0,3        | 0,4   | 0,4   | 0,4    | 5,5       | 3,1   | 0,9   | 1,3   |
| <b>20:5</b>   | 0,1        | 0,2   | 0,1   | 0,1    | 0,1       | 0,1   | 0,1   | 0,2   |
| <b>22:5</b>   | 0,3        | 0,2   | 0,2   | 0,2    | ND        | 0,5   | 1,2   | 1,8   |
| <b>22:6</b>   | 0,1        | 0,1   | 0,1   | 0,1    | 1,2       | 1,0   | 0,3   | 0,2   |
| <b>24:0</b>   | ND         | ND    | ND    | ND     | 2,6       | ND    | ND    | ND    |
| <b>24:1</b>   | ND         | ND    | ND    | ND     | 9,5       | ND    | ND    | ND    |
| <b>Total</b>  | 100,0      | 100,0 | 100,0 | 100,0  | 100,0     | 100,0 | 100,0 | 100,0 |

NI = não identificado ND = não detectado

Tal como se observa, na composição do perfil de ácidos graxos para a dieta controle, o principal ácido graxo saturado foi o palmítico (C16:0) com 15,8 %, seguido do esteárico (C18:0) 2,7 %. E, dentre os insaturados o linoléico (C18:2) com 52,4 %, oléico (C18:1) com 21,5 % e o linolênico ou ômega-3 (C18:3) com 4,4 %.

Para as dietas SC, SQ e SQA, o palmítico representou o principal ácido graxo saturado, seguido de esteárico e em menor proporção o mirístico (C14:0). E para os insaturados, nestas dietas, o oléico representou a maior fração, seguido de linoléico.

A fração mais representativa de ácidos graxos excretados foi para os saturados em relação aos insaturados (razão AGI/AGS < 1 expressa na tabela 14 – página 76), tanto para o controle quanto para os tratamentos. Os ácidos saturados, palmítico, seguido de esteárico, foram os principais ácidos graxos excretados e, para os insaturados, o oléico e linoléico.

#### **4.1.5 Níveis plasmáticos de colesterol, LDL, HDL e triglicerídios**

A tabela 16 apresenta os níveis plasmáticos de colesterol total e suas frações e triglicerídios.

**Tabela 16 – Níveis plasmáticos de colesterol, frações e triglicerídios nos períodos inicial (t = 0), intermediário (t = 17) e final (t = 34) do ensaio biológico.**

| Grupo      | Período (dias) | MÉDIAS (mg/dl)  |                |                 |                |                  |
|------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|------------------|
|            |                | Colesterol      | VLDL           | LDL             | HDL            | Triglicerídios   |
| <b>C</b>   | 0              | 79,43 ± 19,10 a | 10,45 ± 5,39 a | 53,73 ± 21,16 a | 15,25 ± 4,30 a | 52,25 ± 26,95 a  |
|            | 17             | 79,74 ± 7,03 a  | 22,18 ± 5,02 b | 17,56 ± 9,56 b  | 40,00 ± 5,50 b | 110,88 ± 25,11 b |
|            | 34             | 80,64 ± 10,52 a | 23,90 ± 9,52 b | 14,99 ± 10,14 b | 41,75 ± 9,68 b | 119,50 ± 47,59 b |
| <b>SC</b>  | 0              | 90,39 ± 15,95 a | 11,40 ± 4,88 a | 60,56 ± 12,61 a | 18,43 ± 6,19 a | 57,00 ± 24,41 a  |
|            | 17             | 82,99 ± 8,74 a  | 13,63 ± 3,77 a | 24,79 ± 6,99 b  | 44,57 ± 9,14 b | 68,14 ± 18,85 a  |
|            | 34             | 79,04 ± 7,03 a  | 16,69 ± 6,33 b | 17,64 ± 8,93 b  | 44,71 ± 6,70 b | 83,43 ± 31,67 b  |
| <b>SQ</b>  | 0              | 83,70 ± 8,31 a  | 12,57 ± 5,54 a | 60,56 ± 12,61 a | 15,14 ± 4,14 a | 62,86 ± 27,71 a  |
|            | 17             | 80,09 ± 8,35 a  | 16,20 ± 7,34 b | 24,79 ± 6,99 b  | 46,29 ± 4,07 b | 81,00 ± 36,70 b  |
|            | 34             | 86,56 ± 7,96 a  | 24,91 ± 5,54 b | 17,64 ± 8,93 b  | 31,14 ± 5,05 c | 124,57 ± 27,69 b |
| <b>SQA</b> | 0              | 94,91 ± 10,29 a | 13,28 ± 5,13 a | 58,89 ± 13,07 a | 22,75 ± 4,46 c | 66,38 ± 25,66 a  |
|            | 17             | 83,51 ± 11,73 a | 12,10 ± 6,40 a | 21,48 ± 6,81 b  | 49,94 ± 8,39 b | 60,50 ± 31,99 a  |
|            | 34             | 86,10 ± 16,52 a | 17,55 ± 5,66 b | 38,80 ± 12,84 c | 29,75 ± 6,11 c | 87,75 ± 28,31 b  |

C = dieta controle, SC = dieta salsicha com 5 %celulose, SQ = dieta salsicha com 5 % quitosana; SQA = dieta com 5 % de quitosana pré-solubilizada em ácido láctico.

\* médias ± desvios padrão seguidos de letras iguais na mesma coluna não diferem ao nível de 5 %.

No presente estudo, não foram observadas diferenças ( $p < 0,05$ ) nos níveis de colesterol total, em ratos alimentados com as dietas C, SC, SQ e SQA, nos períodos inicial, intermediário e ao final do experimento. A redução dos níveis de LDL-colesterol referente ao período inicial até o intermediário foi significativa nos grupos de animais das dietas C, SC, SQ e SQA, porém superiores para SQA no período final do experimento.

Fukada, Kimura e Ayaky (1991) observaram redução dos níveis séricos de colesterol em ratos alimentados com dieta suplementada com 5 % de quitosana. Os níveis de HDL foram semelhantes na fase intermediária para as diferentes dietas e, inferiores para SQ e SQA ( $p < 0,05$ ) no final do experimento.

Nas frações de VLDL os valores foram superiores ao final do experimento em relação aos valores iniciais para os grupos de animais das diferentes dietas.

No período intermediário do ensaio, os níveis de triglicerídios foram inferiores ( $p < 0,05$ ) para as dietas SC, SQ e SQA em relação ao controle, e ao final do experimento, a dieta SQ apresentou valor superior para esta fração em relação a SC e SQA, porém foi semelhante à dieta controle, não diferindo estatisticamente. Os níveis séricos de triglicerídios dos animais foram inferiores para as dietas SC e SQA no final do experimento, quando comparado aos alimentados com dietas controle e SQ. Segundo Ho et al., (2001), a suplementação de quitosana em humanos, sem restrição de dieta, não apresentou redução nos níveis plasmáticos de lipídios. No entanto, Kanauchi et al., (1994), em experimentação biológica com ratos, relatam que dietas hiperlipídicas, suplementadas com quitosana, reduziram significativamente os triglicerídios plasmáticos, comparado à suplementada com celulose; assim, concluem que a quitosana reduz a digestibilidade aparente da gordura, os níveis de triglicerídios e o ganho de peso.

#### **4.1.6 Espectrometria de ressonância magnética nuclear de hidrogênio**

##### **( $^1\text{H-RMN}$ )**

A análise dos sinais de deslocamentos químicos nos espectros de  $^1\text{H-RMN}$  das amostras de fezes em estudo (Apêndice B), na região referente à ocorrência de compostos alifáticos – ácidos graxos - ( $\delta = 0 - 3,0$  ppm) revelou a existência de perfis espectrais semelhantes para os tratamentos onde foi administrada ração AIN e SQA, sugerindo a ocorrência de processos de metabolização similares, a

despeito das discrepâncias de composição química dos ingestos. Esta abordagem analítica também evidenciou resultados semelhantes para os tratamentos e SQ e SC, ainda que distintos em relação aos tratamentos anteriores. De fato, os perfis espectrais de  $^1\text{H-RMN}$  das fezes dos animais tratados com SQ e SC apresentaram uma proeminência de sinais ( $\delta = 0 - 3,0$  ppm) superior, comparativamente ao observado nos tratamentos AIN e SQA, indicando que a adição de quitosana e celulose, respectivamente, contribuiu para reduzir a quantidade de compostos lipídicos absorvidos pelos animais. Tal aspecto, quando correlacionado aos dados de digestibilidade aparente (tabela 13 – página 73), por exemplo, corrobora para explicar os menores valores deste parâmetro obtidos com a adição de quitosana à dieta. Tomados em conjunto, estes dados confirmam o efeito redutor da quitosana no que concerne à assimilação de gorduras da dieta pelos animais, principalmente em função das possibilidades de interação química de seus grupamentos amina e acetil com a fração lipídica.

## **4.2 Avaliação das salsichas elaboradas com quitosana**

Foram adicionados diferentes percentuais de quitosana em salsichas frankfurt para avaliar seus efeitos sobre os parâmetros de textura (instrumental e sensorial). Junto com estes parâmetros foram avaliados a qualidade microbiológica e aspectos físico-químicos.

### **4.2.1 Avaliação microbiológica**

A tabela 17 apresenta os resultados da avaliação microbiológica determinados neste experimento.

**Tabela 17 - Avaliação microbiológica das amostras de salsichas frankfurt produzidas com diferentes percentuais de quitosana.**

| MICROBIOTA  | DIETAS            |                   |                   |                   |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|   | C                 | Q1 (0,10 %)       | Q2 (0,25 %)       | Q3 (0,50 %)       |
| Clotridios sulfito redutores (UFC g <sup>-1</sup> )             | < 10 <sup>2</sup> | < 10 <sup>2</sup> | < 10 <sup>2</sup> | < 10 <sup>2</sup> |
| <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (UFC g <sup>-1</sup> ) | < 10 <sup>2</sup> | < 10 <sup>2</sup> | < 10 <sup>2</sup> | < 10 <sup>2</sup> |
| Coliformes a 45°C (NMP g <sup>-1</sup> )                        | < 3               | < 3               | < 3               | < 3               |
| <i>Salmonella</i> spp.  | Ausência em 25 g  |

C: salsicha controle. Q1, Q2, Q3: Tratamentos com diferentes níveis de quitosana.

Os resultados da avaliação microbiológica das salsichas associadas aos diferentes tratamentos com adição de quitosana (C-controle, Q1, Q2, e Q3). Os resultados estão relacionados com microrganismos indicadores de higiene ou processamento provenientes de contaminação fecal e patógenos entéricos de veiculação hídrica.

Com relação à contaminação fecal, os resultados encontrados para o grupo de coliformes de origem fecal, evidenciam práticas de higiene e sanitização adequadas, conforme padrões estabelecidos para consumo humano (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE/SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-MA/SVS, 2001). O mesmo critério foi estendido para a avaliação das contaminações por microrganismos presentes nas vias aéreas e, no caso, a presença de *Staphylococcus* coagulase positivo com níveis abaixo de 10<sup>2</sup> UFC g<sup>-1</sup>. Todos os tratamentos (C, Q1, Q2, Q3) apresentaram resultados negativos com relação à detecção de *Salmonella* spp.

Nerbrink e Borch (1993) relatam que, considerando o tipo de tratamento utilizado: temperatura, tempo de manipulação e medidas higiênico-sanitárias de prevenção adotadas é previsível obter resultados com cargas bacterianas reduzidas. Estes pesquisadores mencionam ainda, que a contagem reduzida de microrganismos e a otimização dos fatores que previnem estes desenvolvimentos microbianos são de grande importância na manutenção da segurança e qualidade dos alimentos.

Segundo Jumaa, Furkert e Müller (2002), a atividade antibacteriana da quitosana é afetada pelo valor do pH. O mecanismo inibidor deste polímero policatiônico pode ser atribuído à reatividade com moléculas aniônicas das paredes celulares dos microrganismos. A capacidade da quitosana em reagir com as células bacterianas tem uma associação direta com o pH, resultando em uma variação na concentração ativa destes íons e interferindo na atividade antimicrobiana da quitosana.

Os valores de pH foi 6,22 para a salsicha controle, e para as salsichas Q1, Q2 e Q3 foram 6,36, 6,41 e 6,46, respectivamente. Estes valores diferenciados e progressivos em relação ao controle são decorrentes dos diferentes percentuais de quitosana adicionados, interferindo, desta forma, no pH dos produtos. Estes valores superiores em relação ao controle não interferiram na qualidade microbiológica das salsichas.

Zhu e Zheg, (2003) avaliaram a atividade antimicrobiana da quitosana com diferentes pesos moleculares (abaixo de 305 kDa) utilizando como microrganismos indicadores *E. coli* e *Staphylococcus aureus*. E, em função das concentrações (0,25, 0,50, 0,75 e 1,0 %) de quitosana avaliadas, à medida que a concentração aumenta, o efeito antimicrobiano é mais acentuado. Para o *S. aureus*, uma bactéria Gram-positiva, com o aumento da concentração da

quitosana, o efeito antimicrobiano aumentou. Para teores de quitosana acima de 0,5 % e, com peso molecular superior a 48,5 kDa, a relação de inibição para este microrganismo foi de 95 a 100 %. Uma das razões para o aumento da inibição é a propriedade da quitosana de formar uma membrana (polímero) com capacidade de inibir a adsorção de nutrientes, impedindo o metabolismo deste microrganismo. Para *E. coli*, uma bactéria Gram-negativa, o efeito foi similar. A quitosana, mesmo em baixas concentrações, tem acesso ao citoplasma celular, dificultando que o metabolismo celular se processe.

Outros pesquisadores como Roller, et al. (2002), também avaliaram a capacidade inibidora da quitosana (polímero  $\beta$ -1,4-N-acetilglucosamina) frente a microrganismos patogênicos, como *Salmonella enteritidis*, *Listeria innocua* e lactobacilos (*L. sakei* e *L. viridescens*) em produtos elaborados com carne de suínos, mantidos sob refrigeração (4°C) durante 18 dias. Testes com *Torulaspora delbrueckii* e *Salmonella enteritidis*, mostraram resistência à inibição em concentrações abaixo de 0,5 % quitosana. Comparando com o controle, soluções com 1,0 % de quitosana promoveram inativação de fungos, leveduras, bactérias lácticas e reduziram a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos viáveis em 3 log UFC g<sup>-1</sup>, durante o período de conservação de 18 dias a 7°C, e os resultados indicaram que a quitosana promove uma acentuada inibição de crescimento microbiano em produtos cominuídos resfriados de suínos.

Conseqüentemente, é possível deduzir que a quitosana é um dos fatores que auxiliaram a inibição do crescimento microbiano nas salsichas frankfurt produzidas para este experimento, mesmo com os valores de pH superiores em relação ao controle.

#### 4.2.2 Avaliação físico-química

A tabela 18 apresenta a composição físico-química de salsichas frankfurt com baixo teor de gordura e diferentes níveis de quitosana.

**Tabela 18 - Composição físico-química de salsichas frankfurt de baixo teor de gordura e com diferentes percentuais de quitosana.**

| Parâmetros | Tratamentos  |              |              |              |
|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|            | C            | Q1 (0,10 %)  | Q2 (0,25 %)  | Q3 (0,50 %)  |
| Umidade    | 69,0 ±0,42 a | 69,4 ±0,21 a | 69,6 ±0,18 a | 69,7 ±0,08 a |
| Lipídios   | 7,6 ±0,11 a  | 7,6 ±0,32 a  | 7,5 ±0,14 a  | 7,4 ±0,21 a  |
| Proteínas  | 16,9 ±0,49 a | 16,8 ±0,37 a | 16,5 ±0,66 a | 16,1 ±0,57 a |
| *R.M.F.    | 3,1 ±0,03 a  | 3,1 ±0,07 a  | 3,0 ±0,05 a  | 3,1 ±0,01 a  |

\*R.M.F: resíduo mineral fixo.

Q1, Q2, Q3: Tratamentos com diferentes níveis de quitosana, C: salsicha controle.

Os resultados são as médias de três determinações. Letras diferentes dentro da mesma linha demonstram diferenças significativas ao nível de 5 %.

As salsichas processadas, controle (C) sem adição de quitosana e salsichas contendo 0,10 % (tratamento Q1), 0,25 % (tratamento Q2) e 0,50 % (tratamento Q3) de quitosana, não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para as percentagens de umidade, lipídios, proteínas e resíduo mineral fixo (tabela 18 – página 86).

Ferreira, et al. (2003) relataram que o teor de gordura é inversamente proporcional ao de umidade. Em experimentos relacionados com a elaboração de salsichas, observaram que, à medida que aumentaram o teor de gordura no produto, houve uma redução no percentual de umidade. Resultados semelhantes foram observados por Hughes, Cofrades e Stroy (1997) ao produzirem salsichas com 5, 12 e 30 % de gordura, obtiveram resultados relacionados com os teores de umidade equivalentes a 75, 67 e 51 %, respectivamente.

Os altos teores de proteína e umidade obtidos nos produtos elaborados estão relacionados com o baixo teor de gordura na formulação básica (matriz dividida em 4 frações) deste experimento.

A quantidade de quitosana adicionada às massas das salsichas relacionadas com os tratamentos Q1, Q2 e Q3 não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) no rendimento (%) (relacionadas com o controle - C) e, mesmo quando comparadas entre si; C =  $90,20 \pm 0,44$ ; Q1 =  $90,50 \pm 0,25$ ; Q2 =  $90,44 \pm 0,09$ ; Q3 =  $90,60 \pm 0,31$ .

Serdaroglu e Ozumer (2003), em experimentos com salsichas obtiveram resultados para perda de peso no cozimento, entre 7,6 a 17,5 % com formulações contendo de 5 a 20 % de gordura. Esta variação, segundo os autores, está relacionada com o teor de gordura, pois ao reduzir o teor de gordura aumentou significativamente a perda de peso no cozimento, portanto influenciando diretamente no rendimento.

#### **4.2.3 Avaliação instrumental da textura**

Os resultados apresentados na tabela 19 demonstram que os perfis de textura (TPA – Texture Profile Analysis) das amostras avaliadas não apresentaram diferenças significativas para os parâmetros de adesividade, elasticidade e coesividade.

**Tabela 19 - Teste de Tukey aplicado aos valores médios  $\pm$  desvio padrão obtido para os parâmetros do perfil de textura (TPA) das amostras de salsicha controle (C) e com diferentes percentuais de quitosana.**

| Parâmetros de textura | Tratamentos             |                         |                          |                         | d.m.s (5%) |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------|
|                       | C                       | Q1 (0,10 %)             | Q2 (0,25 %)              | Q3 (0,50 %)             |            |
| Firmeza (g)           | 4.759,97 $\pm$ 423,80 b | 3.569,14 $\pm$ 505,28 c | 5.218,26 $\pm$ 315,42 ab | 5.557,41 $\pm$ 193,35 a | 610,97     |
| Adesividade (g.s)     | -5,91 $\pm$ 3,82 a      | -11,88 $\pm$ 3,76 a     | -8,55 $\pm$ 6,50 a       | -14,46 $\pm$ 18,44 a    | 16,378     |
| Elasticidade          | 0,91 $\pm$ 0,02 a       | 0,91 $\pm$ 0,03 a       | 0,93 $\pm$ 0,01 a        | 0,93 $\pm$ 0,01 a       | 0,03       |
| Coabilidade           | 0,76 $\pm$ 0,01 a       | 0,76 $\pm$ 0,01 a       | 0,75 $\pm$ 0,01 a        | 0,75 $\pm$ 0,01 a       | 0,01       |
| Gomosidade (g)        | 3.602,05 $\pm$ 306,58 b | 2.722,33 $\pm$ 415,99 c | 3.919,7 $\pm$ 200,06 ab  | 4.175,80 $\pm$ 62,29 a  | 466,54     |
| Mastigabilidade (g)   | 3.261,79 $\pm$ 260,80 b | 2.476,64 $\pm$ 393,65 c | 3.648,10 $\pm$ 194,11 ab | 3.864,06 $\pm$ 156,52 a | 431,46     |

C: salsicha controle. Q1, Q2, Q3: Tratamentos com diferentes níveis de quitosana.

d.m.s.: diferença mínima significativa do teste de Tukey ao nível de erro de 5%.

\* médias  $\pm$  desvios padrão seguidos de letras iguais na mesma linha não diferem ao nível de 5 %.

Entretanto, para os parâmetros de firmeza, gomosidade e mastigabilidade, houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre a amostra Q1 em relação às demais (C, Q2 e Q3) e entre a amostra C em relação a Q3, sendo os menores e maiores valores apresentados pela amostra Q1 e Q3, respectivamente.

A tabela 20 apresenta os resultados do teste de Dunnett aplicado aos valores médios obtidos para o perfil de textura comparando a amostra C (controle) com cada uma das amostras analisadas.

**Tabela 20 -Teste de Dunnett aplicado aos valores médios  $\pm$  desvio padrão obtidos para os parâmetros do perfil de textura (TPA) das amostras de salsicha controle (C) e com diferentes percentuais de quitosana.**

| Parâmetro de textura | Tratamento              |                         |                         |                         | d.m.s (5%) |
|----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------|
|                      | C                       | Q1 (0,10 %)             | Q2 (0,25%)              | Q3 (0,50 %)             |            |
| Firmeza (g)          | 4.759,97 $\pm$ 423,80 a | 3.569,14 $\pm$ 505,28 a | 5.218,26 $\pm$ 315,42 b | 5.557,41 $\pm$ 193,35 b | 554,54     |
| Adesividade (g.s)    | -5,91 $\pm$ 3,82 a      | -11,88 $\pm$ 3,76 a     | -8,55 $\pm$ 6,50 a      | -14,46 $\pm$ 18,44 a    | 14,87      |
| Elasticidade         | 0,91 $\pm$ 0,02 a       | 0,91 $\pm$ 0,03 a       | 0,93 $\pm$ 0,01 a       | 0,93 $\pm$ 0,01 a       | 0,03       |
| Coabilidade          | 0,76 $\pm$ 0,01 a       | 0,76 $\pm$ 0,01 a       | 0,75 $\pm$ 0,01 a       | 0,75 $\pm$ 0,01 a       | 0,01       |
| Gomosidade (g)       | 3.602,05 $\pm$ 306,58a  | 2.722,33 $\pm$ 415,99 b | 3.919,70 $\pm$ 200,06 a | 4.175,80 $\pm$ 162,29 b | 423,45     |
| Mastigabilidade (g)  | 3.261,79 $\pm$ 260,80a  | 2.476,64 $\pm$ 393,65 b | 3.648,10 $\pm$ 194,11 a | 3.864,06 $\pm$ 156,52b  | 391,61     |

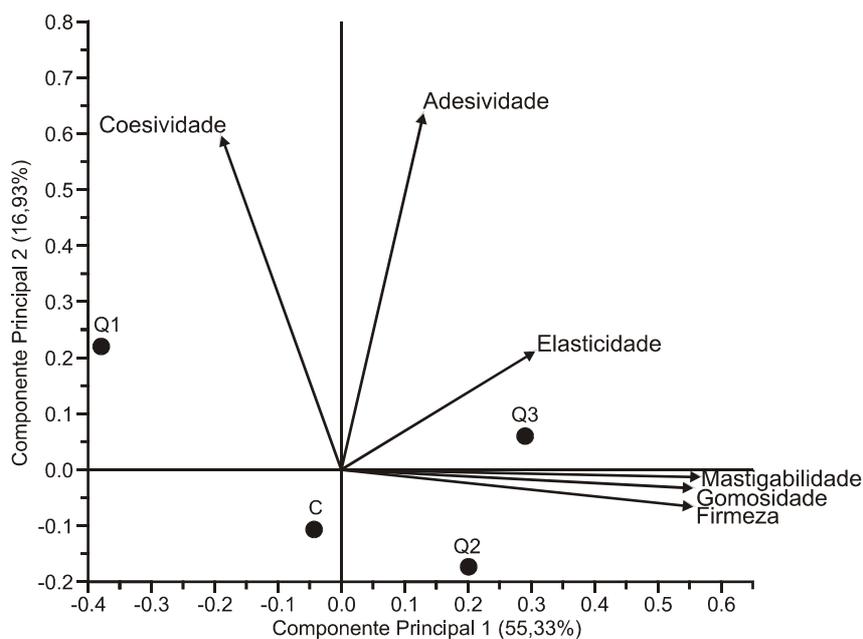
C: salsicha controle. Q1, Q2, Q3: Tratamentos com diferentes níveis de quitosana.

d.m.s.: diferença mínima significativa do teste de Dunnett ao nível de erro de 5%.

\* médias  $\pm$  desvios padrão seguidos de letras iguais na mesma linha não diferem ao nível de 5 %.

Observa-se que a amostra C não apresentou diferença significativa ( $p>0,05$ ) em relação às amostras Q1, Q2 e Q3 para os parâmetros de adesividade, elasticidade e coabilidade. A amostra C apresentou diferença significativa para o parâmetro firmeza em relação às amostras Q2 e Q3 e em relação às amostras Q1 e Q3 para os parâmetros de gomosidade e mastigabilidade.

A figura 7 apresenta o perfil de textura das amostras através da análise dos componentes principais (ACP) em relação aos parâmetros obtidos n ensaio de TPA explicando 72,26 % da variação total (eixo 1 + eixo 2).



**Figura 7 – Perfil de textura instrumental em amostras da salsicha controle (C) e com diferentes percentuais de quitosana (Q1, Q2 e Q3).**

Observa-se que a amostra Q3 é caracterizada pelos parâmetros de elasticidade, mastigabilidade, gomosidade e firmeza, enquanto a amostra Q2 pelos parâmetros firmeza, gomosidade e mastigabilidade e a amostra C por encontrar-se próximo do ponto de origem, é caracterizada como uma amostra que apresenta características físicas intermediária.

#### 4.2.4 Avaliação sensorial da textura

Os escores médios obtidos com os julgadores que definiram o perfil de textura descritivo (Apêndice C) estão representados na tabela 21.

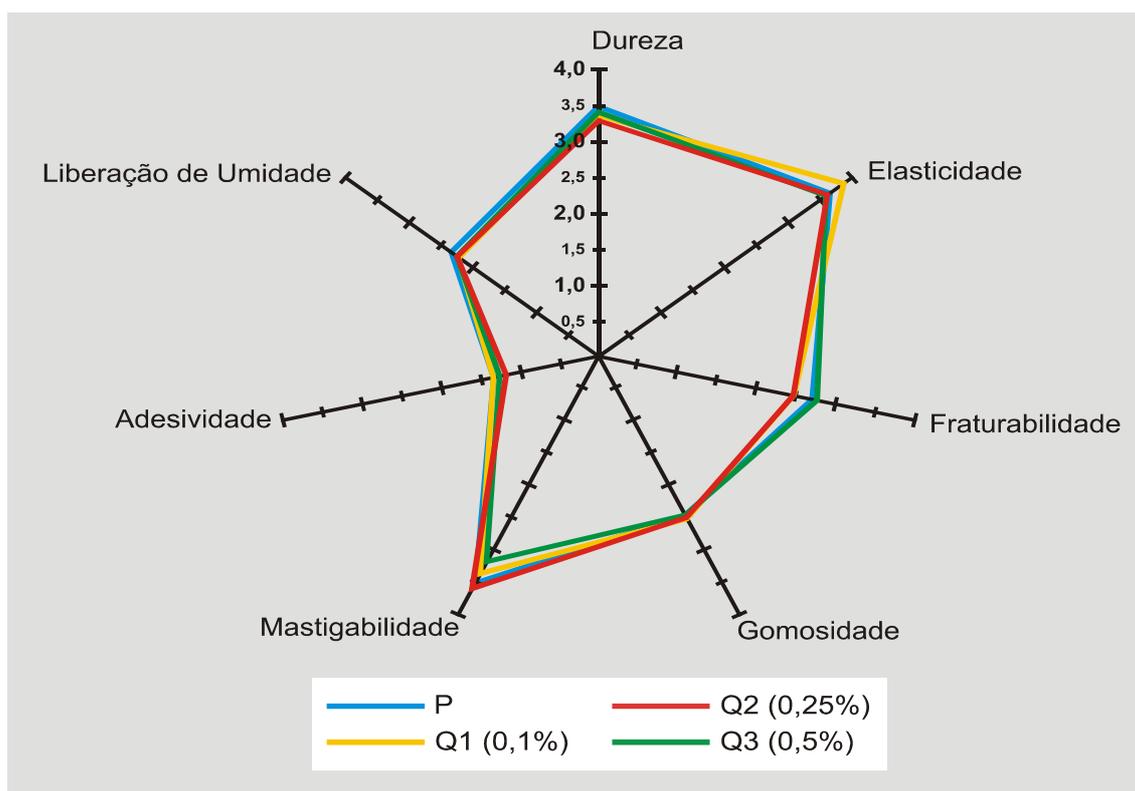
**Tabela 21 - Valores médios obtidos para os parâmetros do perfil de textura sensorial das amostras da salsicha controle (C) e com diferentes percentuais de quitosana.**

| Parâmetros de textura | Formulação |             |             |             |
|-----------------------|------------|-------------|-------------|-------------|
|                       | C          | Q1 (0,10 %) | Q2 (0,25 %) | Q3 (0,50 %) |
| Dureza                | 3,40       | 3,31        | 3,23        | 3,36        |
| Elasticidade          | 3,58       | 3,80        | 3,58        | 3,51        |
| Fraturabilidade       | 2,65       | 2,43        | 2,42        | 2,72        |
| Gomosidade            | 2,43       | 2,47        | 2,44        | 2,41        |
| Mastigabilidade       | 3,43       | 3,31        | 3,54        | 3,13        |
| Adesividade           | 1,28       | 1,27        | 1,13        | 1,18        |
| Liberção de umidade   | 2,28       | 2,16        | 2,17        | 2,20        |

Q1, Q2, Q3: Tratamentos com diferentes níveis de quitosana, C: salsicha controle. Os resultados não apresentaram diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ )

O resultado da análise de variância não apresentou diferenças significativas entre os parâmetros texturais das amostras testadas, demonstrando, portanto, que a adição de quitosana, nos percentuais utilizados, não modificou a textura das mesmas.

Na figura 8 está representado o perfil de textura sensorial e, tal como pode ser observado, todas as amostras apresentaram um perfil similar compatível com o tipo de produto analisado, ou seja, salsichas frankfurt são caracterizadas por apresentarem textura suave (baixa dureza), elasticidade, gomosidade, mastigabilidade baixas. Também são pouco adesivas e com baixa liberação de umidade quando mastigadas.



**Figura 8 – Perfil de textura descritivo de amostras de salsicha controle (C) e com diferentes percentuais de quitosana (Q1, Q2 e Q3).**

Comparando o perfil de textura instrumental com o sensorial, pode se observar algumas diferenças, especialmente, no que diz respeito à dureza ou firmeza das amostras. Sensorialmente não houve diferenças entre a amostra controle (C) e com diferentes níveis de quitosana, porém fisicamente sim.

Isto provavelmente pode ser explicado, porque estes dois métodos de prever a textura de alimentos não medem qualitativamente a mesma propriedade física, pois a medida sensorial de textura é, para os julgadores, o resultado do tipo e velocidade de deformação além da heterogeneidade da amostra, enquanto que a medida instrumental é apenas o resultado da resistência que as amostras oferecem ao corte.

Este fato pode também ser observado analisando a matriz de correlação apresentada na tabela 22.

**Tabela 22 - Matriz de correlação dos atributos de textura sensorial e instrumental de salsichas frankfurt com baixo teor de gordura e com adição de diferentes percentuais de quitosana.**

|                        | DUR <sup>s</sup> | ELA <sup>s</sup> | FRA <sup>s</sup> | GOM <sup>s</sup> | MAS <sup>s</sup> | ADE <sup>s</sup> | LU <sup>s</sup> | DUR <sup>i</sup> | ELA <sup>i</sup> | COE <sup>i</sup> | GOM <sup>i</sup> | MAS <sup>i</sup> | ADE <sup>i</sup> |
|------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| <b>DUR<sup>s</sup></b> | 1,00             |                  |                  |                  |                  |                  |                 |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
| <b>ELA<sup>s</sup></b> | -0,17            | 1,00             |                  |                  |                  |                  |                 |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
| <b>FRA<sup>s</sup></b> | <b>0,81</b>      | <b>-0,66</b>     | 1,00             |                  |                  |                  |                 |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
| <b>GOM<sup>s</sup></b> | -0,39            | <b>0,97</b>      | <b>-0,83</b>     | 1,00             |                  |                  |                 |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
| <b>MAS<sup>s</sup></b> | -0,47            | 0,08             | -0,60            | 0,29             | 1,00             |                  |                 |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
| <b>ADE<sup>s</sup></b> | <b>0,70</b>      | 0,56             | 0,16             | 0,38             | -0,18            | 1,00             |                 |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
| <b>LU<sup>s</sup></b>  | <b>0,81</b>      | -0,39            | <b>0,66</b>      | -0,48            | 0,08             | 0,49             | 1,00            |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
| <b>DUR<sup>i</sup></b> | -0,01            | <b>-0,98</b>     | 0,54             | <b>-0,92</b>     | -0,09            | <b>-0,71</b>     | 0,19            | 1,00             |                  |                  |                  |                  |                  |
| <b>ELA<sup>i</sup></b> | <b>-0,67</b>     | -0,54            | -0,11            | -0,39            | 0,03             | <b>-0,99</b>     | -0,54           | <b>0,71</b>      | 1,00             |                  |                  |                  |                  |
| <b>COE<sup>i</sup></b> | 0,25             | <b>0,90</b>      | -0,34            | <b>0,79</b>      | 0,01             | <b>0,86</b>      | 0,04            | <b>-0,97</b>     | <b>-0,86</b>     | 1,00             |                  |                  |                  |
| <b>GOM<sup>i</sup></b> | 0,00             | <b>-0,98</b>     | 0,55             | <b>-0,92</b>     | -0,09            | <b>-0,70</b>     | 0,20            | <b>1,00</b>      | <b>0,70</b>      | <b>-0,97</b>     | 1,00             |                  |                  |
| <b>MAS<sup>i</sup></b> | -0,05            | <b>-0,97</b>     | 0,51             | <b>-0,90</b>     | -0,09            | <b>-0,74</b>     | 0,15            | <b>1,00</b>      | <b>0,74</b>      | <b>-0,98</b>     | <b>1,00</b>      | 1,00             |                  |
| <b>ADE<sup>i</sup></b> | 0,08             | -0,06            | -0,17            | 0,05             | <b>0,84</b>      | 0,20             | 0,60            | -0,07            | -0,35            | 0,13             | -0,06            | -0,09            | 1,00             |

<sup>s</sup> Parâmetros sensoriais

<sup>i</sup> Parâmetros instrumentais.

Para valores maiores que 0,64 (em negrito) há correlação ao nível de 0,5 % de probabilidade.

Entre os atributos texturiais determinados de modo físico e sensorial, observa-se que a dureza sensorial (DUR<sup>s</sup>) não apresenta correlação com a instrumental (DUR<sup>i</sup>), resultado semelhante também foi observado por Hansen et al. (2004).

O coeficiente de correlação sobre os escores individuais entre os atributos de textura sensorial mostra que a dureza (DUR<sup>s</sup>) teve boa correlação

com fraturabilidade (FRA<sup>s</sup>), adesividade (ADE<sup>s</sup>) e liberação de umidade (LU<sup>s</sup>) e a elasticidade (ELA<sup>s</sup>) foi fortemente correlacionada com gomosidade (GOM<sup>s</sup>). Desta forma, para os julgadores, estas propriedades não são avaliadas de maneira independente.

O atributo elasticidade sensorial (ELA<sup>s</sup>) foi direta e altamente correlacionado com coesividade instrumental (COE<sup>l</sup>) e inversamente proporcional aos parâmetros instrumentais de dureza (DUR<sup>l</sup>), gomosidade (GOM<sup>l</sup>) e mastigabilidade (MAS<sup>l</sup>). Estes resultados expressam então que, quanto mais elástica se apresentou sensorialmente, instrumentalmente foi mais coesa e com menor dureza, gomosidade e mastigabilidade ( $p \leq 0,05$ ).

Para o atributo adesividade sensorial (ADE<sup>s</sup>) ocorreu correlação com coesividade instrumental (COE<sup>l</sup>), ou seja, quanto mais adesiva mais coesas foram as salsichas. Este atributo ADE<sup>s</sup> foi inversamente proporcional aos atributos instrumentais DUR<sup>l</sup>, ELA<sup>l</sup>, GOM<sup>l</sup> e MAS<sup>l</sup>.

Instrumentalmente o TPA apresentou forte correlação entre o atributo dureza (DUR<sup>l</sup>) e a gomosidade (GOM<sup>l</sup>) e mastigabilidade (MAS<sup>l</sup>). E, também, ocorreu forte correlação entre gomosidade (GOM<sup>l</sup>) e mastigabilidade (MAS<sup>l</sup>).

## 5 CONCLUSÕES

Os animais alimentados com as dietas formuladas com 5 % de quitosana e 5 % de quitosana pré-solubilizada em ácido láctico apresentaram uma absorção de gordura inferior à dieta controle, cuja digestibilidade aparente foi de 92,24 % contra 61,43 % e 71, 22 % das dietas estudadas, respectivamente.

O ganho de peso dos animais tratados com as dietas contendo quitosana foi menor entre o período compreendido da segunda a quinta semana, em relação ao período da primeira a quinta semana, considerando a primeira semana como fase de adaptação, estando em conformidade com as percentagens de digestibilidade aparente das dietas.

Não houve diferença significativa entre o peso dos fígados dos grupos de animais submetidos às diferentes dietas, demonstrando não haver interferência da quitosana nesse quesito.

Os níveis plasmáticos de colesterol total dos animais alimentados com as dietas controle e tratamentos não apresentaram diferenças ao término do experimento.

As salsichas formuladas com os percentuais de quitosana propostos não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle, no que se refere à composição físico-química e rendimento pós-processamento.

O resultado da avaliação microbiológica não apresentou diferença entre a salsicha controle e as salsichas com diferentes quantidades de quitosana.

A análise sensorial não apresentou diferenças significativas entre as salsichas contendo quitosana e as do controle, referente aos parâmetros dureza, elasticidade, fraturabilidade, gomosidade, mastigabilidade, adesividade e liberação de umidade. Porém, para os parâmetros instrumentais de textura ocorreram diferenças significativas para a dureza.

Em relação aos parâmetros sensoriais de textura das salsichas avaliadas, a dureza apresentou correlação com fraturabilidade, adesividade e liberação de umidade, sendo que a elasticidade das salsichas apresentou alta correlação com gomosidade.

É possível, dentro dos parâmetros avaliados, produzir salsichas frankfurt de baixo teor de gordura adicionadas de quitosana, sem alterar significativamente suas características sensoriais de textura.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente estudo alcançou seus objetivos, comprovando a originalidade do tema, uma vez que nenhum estudo citado na literatura até o momento, estudou em ensaio biológico o comportamento deste polímero e sua biodisponibilidade quando aplicado diretamente numa emulsão cárnica.

Tendo em vista que os dados experimentais demonstraram que as salsichas de baixo teor de gordura, elaboradas com quitosana reduziram a digestibilidade aparente da gordura e apresentaram características adequadas de textura, podem contribuir com benefícios à saúde.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDIS, P. B. Occurrence of lipid oxidation products in foods. **Food Chemistry Toxicology**, n. 24, p. 1021, 1986.

ALBA, P. L. L.; LOPES-MARTINEZ, L.; GARCIA, M. G. Determinación espectrofotométrica de la pureza de la quitosana mediante reacción con ninhidrina. **Anales de Química**, v. 86, p. 801-804, 1990.

AL ZAEMEY, A. B.; MAGAN, N.; THOMPSON, A. K. Studies on the effect of fruit-coating polymers and organic acids on growth of *Colletotrichum musae* in vitro and on post-harvest control of anthracnose of bananas. **Mycology Research**, v. 97, n. 12, p. 1.463-1.468, 1993.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS –. **Official Methods of Analysis**. 15 th., Virginia, USA, 1998.

\_\_\_\_\_. **Official Methods of Analysis**. 16 th., 5 th Revision, v. 1, Gaithersburg, Maryland, USA, 1999.

\_\_\_\_\_. **Official Methods of Analysis**. 16 th., Washington, D.C., 2000.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington, 2001.

BARROS, L. A. Obesidade infantil – Uma alternativa natural contra o excesso de peso. **Editorial Benzen**, n. 1, São Paulo, 2003.

BELL, S. J.; GOODRICK, K. G. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 42 p. 163-178, 2002.

BETANO, C.; SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R. Estabilidade das emulsões cárneas. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n. 210, p. 85 – 90, ago. 1994.

BLOUKAS, J. G.; PANERAS. Substituting olive oil for pork block fat affects quality of low-fat frankfurters. **Journal of Food Science**, v. 58, p. 705-709, 1993.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-MA/SVS. Portaria nº451/1997. Princípios Gerais para o Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, 02 de julho de 1998.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA/MS. Resolução nº 18 de 30 de abril de 1999 – Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para a análise e comprovação de

propriedades funcionais e/ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos; **Diário Oficial da União**, 03 de maio de 1999.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Resolução nº 19 de 30 de abril de 1999 – Aprova o Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde em sua rotulagem; **Diário Oficial da União**, 03 de maio de 1999.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Resolução da Diretiva Colegiada nº 12 de 02 de janeiro de 2001 - Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos; **Diário Oficial da União**, 10 de janeiro de 2001.

BROUSSIGNAC, P. “**Chemistry Industry Genie Chimica**. v. 99, p. 1.241, 1968.

\_\_\_\_\_. Chemistry Industry Genie Chimica. In: DOMARD, A. pH and c.d. measurements on a fully deacetylated chitosan: application to Cu<sup>2+</sup> - polymer interactions. **International Journal of Biology Macromolecular**, v. 9, p. 98 -104, 1987.

BYUN, M. W.; LEE, K. H.; LEE, J. W.; JO, C. Quality properties of pork sausage prepared with water-soluble chitosan oligomer. **Meat Science**, v. 59, n. 4, p. 369-375, 2001.

CANDOGAN, K.; KOLSARICI, N. The effects of carragenan and pectin on some quality characteristic of low-fat frankfurters. **Meat Science**, v. 64, p. 199 -206, 2003.

CHANDY, T.; SHARMA, C. P. Chitosan matrix for oral sustained delivery of ampicilin. **Biomaterial**, v. 12, n. 12, p. 65 -70, 1993.

CIVILLE, A. V.; SZCZESNIAK, A. S. Guidelines to training a texture profile panel. **Journal Texture Studies**. v. 4, p. 204, 1973.

COFRADES, S.; CARBALLO, J.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Heating rate effects on high-fat and low-fat frankfurters with a high content of added water. **Meat Science**, v. 47, p. 105 -114, 1997.

COFRADES, S.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F.; CARBALLO, J. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. **Meat Science**, v. 59, p. 5 -13, 2001.

COORDENAÇÃO-GERAL DA POLÍTICA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO – CGPAN. **Sobrepeso e Obesidade**. Disponível em: <http://portalweb01.saude.gov.br/alimentação/sobrepeso.cfm>. Acessado em 17 de jan. de 2004.

COTTA, C. Obesidade é problema mundial. **Vida e saúde – alimentação**. Disponível em: <http://www.saude.terra.com.br/interna/0, O1244192-EI1501,00.html>. Acessado em 17 de agosto de 2004.

CREHAN, C. M.; HUGHES, E.; TROY, D. J.; BUCKLEY, D. J. Effects of fat level and maltodextrin on the functional properties of frankfurters formulated with 5, 12 and 30 % fat. **Meat Science**, v. 55, n. 4, 2000.

DARMADJI, P.; IZUMIMOTO, M. Effect of chitosan in meat preservation. **Meat Science**, n. 38, p. 243 -254, 1994.

DEL BLANCO, L. F.; RODRIGUEZ, M. S.; SCHULZ, P. C.; AGULLÓ, E. Influence of the deacetylation degree on chitosan emulsification properties. **Colloid Polymer Science**, v. 277, n.19, p. 1.087 -1.092, 1999.

DOMARD, A.; RINAUDO, M. Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan. **International Journal of Biology Macromolecule**, v. 5, n. 2, p. 49 -52, 1983.

DOMINICI, S. Influenza dell' aggiunta di nitrati e nitriti su alcuni parametri di conservabilità degli insaccati. **Industrie alimentari**, v.3, p. 865 – 867, 1981.

DOMSZY, J. G. E.; ROBERTS, A. F. Evaluation of infrared spectroscopic technique for analyzing chitosan. **Macromolecule Chemistry**, v. 186, p. 1671 -1677, 1985.

EIDEM, C. A. Interaction of lead and chromium with chitin and chitosan. **Journal Applied Polymer Science**, v. 25, p. 1.587 -1.588, 1980.

FELT, O.; BURI, P; GURNY, R. Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery. **Drug Development Industry Pharmaceutical**, v. 24, p.979 - 993, 1998.

FERREIRA, M. F.; SILVA, A. T.; ROBBS, P. G.; GASPAR, A. Avaliação físico-química de salsichas tipo Viena com substituição de gordura animal por óleo de girassol. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 1, p. 1 -7, 2003.

FREEPONS, D. Enhancing food production whit chitosan seed-coating technology. In: MUZZARELLI, R.; JEUNIAUX, C.; GOODAY, G. W. (Ed.). **Chitin in Nature and Technology**, New York, Plenum Press, p. 129 –139, 1986.

FUKADA, Y.; KIMURA, K.; AYAKY, Y. Effect of chitosan feeding on intestinal bile acid metabolism in rats. **Lipides**, [S. I.], v. 26, n. 5, p. 395 -399, 1991.

FURDA, I. **Nonabsorbable lipid binder**. U.S., n. 423, 1980. 458 p.

GALLAHER, C. M.; MUNION, J.; HESSLINK, JR.; WISE, J.; GALLAHER D. D. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption an bile acid and fat excretion in rats. **Journal of Nutrition**. v. 130, p. 2753 -2759, 2000.

GASPAR, A. **Produção de salsichas tipo Viena com teor reduzido de gordura animal**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Tecnologia – UFRRJ, 1995, 79 p.

GHINELLI, I. **Le carni conservati**. Parma: Nazionale, v. 2, p. 1.410 – 2.089, 1977.

GILDBERG, A.; STENBERG, E. A new process for advanced utilization of shrimp waste. **Process Biochemistry**, v. 36, p. 809 - 812, 2001.

GOLDIM, B. K.; PAN, F. The absence of resurgent sodium current in mouse spinal neurons. **Brain Research**, n. 1-2, p. 162-168. 1997.

GOLL, D., ROBSON, R. M., STROMER, M. H. Muscle proteins. In WHITAKER, J. R., TANNEMBAUM, S.R. **Food proteins**. New York: AVI, 1977. p.121-174.

GOOSEN, M.F.A. **Applications of chitin and chitosan**. Lancaster: Technomic, 1997. 336 p.

GUIMARÃES, A. C. Sobrepeso e obesidade: fatores de risco cardiovascular. **Revista Hipertensão**, v. 4, n. 3, 2001.

HANSEN, S.; HANSEN, T., AASLYNG, M. D.; BYRNE, D. V. Sensory and instrumental analysis of longitudinal and transverse textural variation in pork *longissimus dorsi*. **Meat Science**, v. 68, p. 611 – 629, 2004.

HARPER, R. **“Bioquímica”**. 6. ed., Brasil: ed Atheneu, 1990. 785p.

HAYES, E. R.; DAVIES, D. H. Characterization of chitosan. II: the determination of the degree of acetylation of chitosan and chitin. In: MUZZARELLI, R.A.A.; PARISER, E.R. (Ed.). **Proceedings of the first international conference on chitin/chitosan**. Cambridge: MA – MIT, 1978, p. 406-420.

HO, S. C.; TAI, E. S.; ENG, P. H.; TAN, C. E.; FOK, A. C. In the absence of dietary surveillance, chitosan does not reduce plasma lipids or obesity in hypercholesterolaemic obese Asian subjects. **Singapore Medical Journal**, v. 42, p. 6-10, 2001.

HUGHES, E.; COFRADES, S.; TROY, D. J. Effects of fat level, oat fiber and carrageenan on frankfurters formulated with 5, 12 and 30 % fat. **Meat Science**, v. 45, p.273 - 281, 1997.

HUGUET, M. L.; GROBOILLOT, A; NEUFELD, R. J. Hemoglobin encapsulation in chitosan/calcium alginates beds. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 51, p. 1.427-1.432, 1994.

IBGE - **Anuário Estatístico do Brasil** – Rio de Janeiro, Ed. IBGE, 1994, 150p.

IKEDA, I.; TOMARI, Y.; SUGANO, M. Interrelated effects of dietary fiber and fat on lymphatic cholesterol and triglyceride absorption in rats. **Journal of Nutrition**, n. 119, p. 1383 - 1386, 1989.

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY – IFST. **Development and use of microbiological criteria for foods**. London, IFST, ISBN 0905367, 16 (2) 1999.

JENNINGS, C. D.; BOLEYN, K.; BRIDGES, S. R.; WOOD, P. J.; ANDERSON, J. W. A comparison of the lipid-lowering and intestinal morphological effects of cholestyramine, chitosan and oat gum in rats. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**. v. 189, p. 13 - 20, 1988.

JIANG, X.; CHEN, L.; ZHONG, W. A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v.54 n. 4, p. 457-463, 2003

JO, C.; LEE, J. W.; LEE, K. H.; BYUN, M. W. Quality properties of pork sausage prepared with water-soluble chitosan oligomer. **Meat Science**, v. 59, n. 4, p. 369 - 375, 2001.

JOLLES, P.; MUZZARELLI, R. A. A. **Chitin and chitinases**. Berlin: Birkhauser, 1999. 340 p.

JUMAA, M.; MÜLLER, B. W. Physicochemical properties of chitosan-lipid emulsions and their stability during the autoclaving process. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 13, n. 2, p. 175 -184, 1999.

\_\_\_\_\_. ; FURKERT, F. H.; MÜLLER, B.W. A new lipid emulsion formulation with high antimicrobial efficacy using chitosan. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 53, n. 1, p. 115 - 123, 2002.

KANAUCHI, O.; DEUCHI, K.; ISAMATO, Y; KOBAYASHI, E. Increasing effect of a chitosan and ascorbic acid mixture on faecal dietary fat excretion. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, v. 58, n. 9, p. 1.617 - 1.620, 1994.

KANAUCHI, O.; DEUCHI, K.; ISAMATO, Y; SHIZUKUISHI, M.; KOBAYASHI, E. Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect of ascorbate. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, v. 59, n. 5, p. 786 - 790, 1995.

KARLSEN, J. Excipient properties of chitosan. **Manufacture Chemistry**, v. 3, p. 18-19, 1991.

KNOWLES, J. R.; ROLLER, S. Efficacy of chitosan, carvacrol and a hydrogen peroxide-based biocide against foodborne microorganisms in suspension and adhered to stainless steel. **Journal of Food Protection**, n. 64, p. 1.542 - 1.548, 2001.

KOIDE, S. S. Chitin – chitosan: properties, benefits and risks. **Nutrition Research**, v. 18, n. 6, p. 1091-1101, 1998.

KRUGER, C. L; MANN S. W. Safety evaluation of functional ingredients. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 793-805, 2003.

KUMAR, S. Recent trends in use of nitrites in cured meats: a review. **Indian Food Packer**, v. 5, p. 84, 1982.

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Functional Polymers**, v. 46, p. 1-27, 2000.

LABORATÓRIO NACIONAL DE REFERÊNCIA ANIMAL – LANARA. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981.

LAWRIE, R. A. **Ciência de la carne**. Zaragoza: Acribia, 1967. 380 p.

LI, Q.; DUNN, E. T.; GRANDMAISON, E. W.; GOOSEN, M. F. A. Applications and properties of chitosan. In: GOOSEN, M. F. A. (Ed.). **Applications of chitin and chitosan**. Basel: Technomic, p. 3 -29, 1997.

LIM, L.Y.; WAN, L. S. C. Heat treatment of chitosan films. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 21, n. 7, p. 839 - 846, 1995.

LIN, K. W.; CHAO, J. Y. Quality characteristics of reduced-fat Chinese-style sausage as related to chitosan's molecular weight. **Meat Science**, v. 59, n. 4, p. 343 -351, 2001.

MAERKER, G. Cholesterol autoxidation. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 64, p. 388, 1987.

MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação de um método simples e econômico para a metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 53, p. 27 - 35, 1993.

MARASCHIN, M; PASSOS, R; DUATE DA SILVA, J. M. O; DIAS, P. F; ARAÚJO, P. S; OLTRAMARI, A. C; FONTANA, J. D; CARO, M. S. B. Isolation and *trans*-resveratrol analysis in Brazilian red wine by <sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance. In: *Magnetic resonance in food science – a view to the future*, (Webb, G. A et al., Eds), **Royal Society of Chemistry, Cambridge**, p. 136-141, 2001.

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

MERMEL, V. L. Old paths new directions: the use of functional foods in the treatment of obesity. **Food Science & Technology**. v. 15, p. 532 - 540, 2004.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Descriptive analysis technique. In: **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 3 ed., p.187-200, 1999.

MEYERS, P. S.; NO, H. K. Preparation of chitin and chitosan. In: MUZZARELLI R. A. A.; PETER, M. G. **Chitin Handbook**, p. 475 – 489, 1997.

MOORE, G. K.; ROBERTS, G. A. E. Determination of the degree of acetylation of chitosan. **International Journal of Biology Macromolecule**. v. 2, p. 115 - 116, 1980.

MUZZARELLI, R. A. A.; TANFANI, F.; EMANUELLI, M.; MARIOTTI, S. N - (carboxymethylidene) chitosan and N - (carboxymethyl) chitosan: novel chelating polyampholytes obtained from chitosan glyoxylate. **Carbohydrate Research**, v. 107, p.199 - 214, 1982.

\_\_\_\_\_ ; ROCCHETTI, R. The determination of the degree of acetylation of chitosan by spectrophotometry. In: MUZZARELLI, R.; JEUNIAUX, C.; GOODAY, G. W. (Ed.). **Chitin in Nature and Technology**. New York: Plenum Press, 1986, p. 385-388.

\_\_\_\_\_ ; WECKY, M; FILIPPINI, O.; SIGON, F. Removal of trace metal ions from industrial waters, nuclear effluents and drinking water, with the aid of cross-linked N-carboxymethylchitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 11, p. 293 - 306, 1989.

\_\_\_\_\_ ; IIARI, P.; PETRARULO, M. Solubility and structure of N-carboxymethylchitosan. **International Journal of Biology Macromolecule**, v. 16, n. 4, p. 177 - 180, 1994.

\_\_\_\_\_. Chitosan-based dietary foods. **Carbohydrate Polymers**, v. 29, p. 309 - 316, 1996.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE. Clinical guidelines on the identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults. Bethesda, MD: US Department of Health and Human Services, 1998.

NAZÁRIO, G. Aditivos: seu uso sob controle. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n. 224, p. 34 – 41, 1995.

NERBRINK, E.; BORCH, E. Evaluation of bacterial contamination at separate processing stages in emulsion sausage production. **International Journal of Food Microbiology**, n. 20, p. 37 - 44, 1993.

OSBURN, W. N.; KEETON J. T. Evaluation of low-fat sausage containing designed lamb and konjac gel. **Meat Science**, v. 68, n. 2, p. 221 - 233, 2004.  
OUCHI, T.; MANDA, T.; FUGIMOTO, M. Synthesis and antitumor-activity of chitosan carrying 5-fluorouracils. **Macromolecule Chemistry**, v. 190, p. 1.817 - 1.825, 1989.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**, v. II, 1994. 324 p.

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**, v 1, 1995.

PARK, J.; RHEE, K. S.; ZIPRIM, Y. A. Low-fat Frankfurters with elevated levels of water and oleic acid. **Journal of Food Science**, v. 55, p. 871, 1990.

PENICHE-COVAS, C.; JIMÉNEZ, M. S. Characterization of silver-binding chitosan by thermal analysis and electron impact mass spectrometry. **Carbohydrate Polymer**, v. 9, p. 249 - 256, 1988.

PETER, M. G. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. J. M. S. **Pure Applied Chemistry**, v. 32, p. 629-640, 1995.

PIETRASIK, Z.; DUDA, Z. Effect of fat content and soy protein/carragenan mix on the quality characteristics of comminuted, scalded sausages. **Meat Science**, v. 56, n. 2, p. 181 - 188, 2000.

QUATTARA, B.; SIMARD, R. E.; PIETTE, G.; BÉGIN, A.; HOLLEY R. A. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. **International Journal of Food Microbiology**, v. 62, n. 2, 2000.

RATHKE, T. O.; HUDSON, S. M. Review of chitin and chitosan as fiber and film formers. **Journal of Macromolecule Science**, v. 34, p.375-437, 1994.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEI, G. C. AIN – 93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN – 76A Rodent Diet. **American Institute of Nutrition**, n. 22, p. 1.939 – 1.951, 1993.

RHOADES, J.; ROLLER, S. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, p. 80 - 86, 2000.

RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 232, 1992.

ROCCO, S. C. Papel dos substitutos de gordura na elaboração de lingüiças frescas. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 271, p. 89, set. 1999.

RODRIGUES F. A. **Tecnologia de Produtos Cárneos**. Campinas: ITAL. 1988. 154 p.

ROLLER, S.; SAGOO, S.; BOARD, R.; O'MAHONY, T.; CAPLICE, E.; FITZGERALD, G.; FOGDEN, M.; OWEN, M.; FLETCHER, H. Novel combinations of chitosan, carnocin and sulphite for the preservation of chilled pork sausages. **Meat Science**, v. 62, n. 2, p. 165 - 177, 2002.

SABNIS, S.; BLOCK, L. H. Improved infrared spectroscopic method for the analysis of degree of N-deacetylation of chitosan. **Polymer Bulletin**, v. 39, p. 67 - 71, 1997.

SADLER, M. J. Meat alternatives – market developments and health benefits. **Food Science & Technology**, v. 15, n. 5, p. 250 - 260, 2004.

SAGOO, S.; ROLLER, S.; BOARD R. Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products. **Food Microbiology**, n. 19, p. 175 - 182, 2002.

SBC – SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose. Brasília, 2001.

SCHULZ, P. C. Emulsification properties of chitosan. **Colloid Polymer Science**, v. 276, p.1.159 - 1.165, 1998.

SERDAROGLU, M.; OZSUMER, M. S. Effects of soy protein, whey powder and wheat gluten on quality characteristics of cooked beef sausages formulated with 5, 10 and 20 % fat. **Food Science and Technology**, v. 6, n. 2, 2003.

SINGH, D. K.; RAY, A. R. Characterization of grafted chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, p. 251 - 255, 1998.

SOTO-PERALTA, N. V.; MUELLER, H; KNORR, O. Effects of chitosan treatments on the clarity and color of apple juice. **Journal of Food Science**, v. 54, p. 495 - 496, 1989.

ST. JOHN, L. C. Sensory and physical attributes of frankfurters with reduced fat and elevated monounsaturated fat. **Journal of Food Science**, v. 51, p. 1.144, 1986.

SYNOWIECKI, J.; AL-KHATEED, N. A. Production, properties and some new applications of chitin and its derivatives. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 2, p. 145 - 231, 2003.

SZCZESNIAK, A. S. Classification of textural characteristics. **Journal of Food Science**, v. 28, p. 385 - 389, 1963.

THARANATHAN, R. N.; KITTUR F. S. Chitin - The undisputed Biomolecule of great potencial. **Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 1, p. 61 - 87, 2003.

TRAUTWEIN, E. A.; JÜRGENSEN, U.; ERBERSDOBLER, H. F. Cholesterol-lowering and gallstone-preventing action of chitosans with different degrees of deacetylation in hamsters fed cholesterol-rich diets. **Nutrition research**, v. 17, n. 6, p. 1053 - 1065, 1997.

VARMA, A. J.; DESHPANDE, S. V.; KENNEDY, J. F. Metal complexation by chitosan and its derivatives; a review. **Carbohydrates Polymers**, v. 55, p. 77-79, 2004.

VENERONI, G. Effect of a new chitosan on hyperlipidemia and overweight in obese patients. **Chitin Enzimology**, v. 2, 1996. 245 p.

VENTURA, P. Lipid lowering activity of chitosan, a new dietary integrator. **Chitin Enzimology**, v. 2, 1996. 345 p.

WALZEM, R. L Functional foods. **Food Science & Technology**, v. 15, p. 518, 2004.

WATKINS, S. M.; GERMAN, J. B. Metabolic assessment – a key to nutritional strategies for health. **Food Science & Technology**, v.15, p. 541 - 549, 2004.

WRIGHT, A.; BURSTYN, P. G.; GIBNEY, M. J. Dietary fibre and blood pressure. **British Medicinal Journal**, v. 2, p. 1.541 - 1.543, 1979.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Integrated prevention of noncommunicable diseases. Draft global strategy on diet, physical activity and health., 2003.

YETIM. H.; MÜLLER, W. D.; EBER, M. Using fluid whey in comminuted meat products: effects on technological, chemical and sensory properties of frankfurter-type sausages. **Food Research International**, v. 34, n. 2-3, p. 97 - 101, 2001.

YOUN, S. K.; PARK, S. M.; KIM, Y. J.; AHN, D. H. Effect on storage property and quality in meat sausage by added chitosan. Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Pusan, Korea. Disponível em: <http://www.chitosan.or.kr/intro1/99-4-4-3.html>. Acessado em 18 de agosto de 2001.

ZHU, J. F.; ZHENG, L. Y. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. **Carbohydrate Polymer**, n. 2, p. 1 - 4, 2003.

**ANEXO A – CERTIFICADO DE ANÁLISE DE CELULOSE MICROFINA**

# RHOSTER

INDÚSTRIA E COMÉRCIO LTDA.

## CERTIFICADO DE QUALIDADE

**Produto: Celulose Microfina**

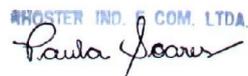
Lote: 2050/01

Fabricado: 11/2001

Validade: 11/2006

| Análises                          | Especificações    | Resultados |
|-----------------------------------|-------------------|------------|
| Aspecto                           | Pó Branco Fibroso | Passa      |
| Odor                              | Inodoro           | Passa      |
| Identificação A                   | Positivo          | Passa      |
| Identificação B                   | Positivo          | Passa      |
| Identificação C                   | 440 a 2250        | 496        |
| Perda por Secagem %               | Máx. 6.0          | 5.0        |
| pH                                | 5.0 a 7.5         | 6.2        |
| Resíduo de Ignição %              | Máx. 0.30         | 0.04       |
| Substâncias Solúveis em Água %    | Máx. 1.50         | 0.12       |
| Substâncias Solúveis em Éter %    | Máx. 0.15         | 0.00       |
| Metais Pesados (ppm)              | Máx. 10           | <10        |
| Retenção Malha 35 (425 Microns) % | Máx. 1.0          | 0.0        |
| Retenção Malha 200 (74 Microns) % | Máx. 40.0         | 29.0       |

Rhoster Indústria e Comércio Ltda.

RHOSTER IND. E COM. LTDA.  


**ANEXO B – CERTIFICADO AMIDO DEXTRINIZADO**

# RHOSTER

INDÚSTRIA E COMÉRCIO LTDA.

## CERTIFICADO DE QUALIDADE

**Produto: Amido Dextrinizado**

Lote: 1259045

Fabricado: 09/2001

Validade: 09/2002

| Análises                          | Métodos | Resultados | Especificações |        |
|-----------------------------------|---------|------------|----------------|--------|
|                                   |         |            | Mínimo         | Máximo |
| Umidade (%)                       | U.10    | 2,4        |                | 5,0    |
| Dextrose equivalente              | D.10    | 39         | 38,0           | 40,0   |
| pH                                | P.10    | 4,9        | 4,5            | 5,2    |
| Aspecto                           | A.100   | A          | A              | B      |
| Odor                              | O.10    | A          | A              | B      |
| Sabor                             | S.10    | A          | A              | B      |
| Contagem total de bactérias UFC/g | MBM-1   | 10         |                | 5000   |
| Bolores e Leveduras UFC/g         | MBF-1   | 0          |                | 100    |
| Coliforme Total /g                | MBE-2   | 0          |                | 10     |
| Coliforme Fecal /g                | MBE-2   | ND         |                | ND     |
| E.Coli UFC/g                      | MBE-2   | ND         |                | ND     |
| Salmonella / Shigella UFC/g       | MBS-1   | ND         |                | ND     |
| Staphylococcus Aureus UFC/g       | MBA-1   | ND         |                | ND     |
| Infestação / 100g                 | MIA-1   | NEG        |                | NEG    |

Rhoster Indústria e Comércio Ltda.

RHOSTER IND. E COM. LTDA.

*Paula Soares*

**ANEXO C – CERTIFICADO SACAROSE**

# RHOSTER

INDÚSTRIA E COMÉRCIO LTDA.

## CERTIFICADO DE QUALIDADE

**Produto: SACAROSE P.A.**

Lote: 14297

Fabricado: 10/2001

Validade: 10/2005

| TESTES             | LIMITES           | RESULTADOS    |
|--------------------|-------------------|---------------|
| Características    | Cristal, branco   | De acordo     |
| Acidez             | Máx. 0,0008 meq/g | < 0,0008meq/g |
| Açúcar Invertido   | Máx. 0,05%        | < 0,05%       |
| Cloretos           | Máx. 0,005%       | < 0,005%      |
| Ferro              | Máx. 0,0005%      | < 0,0005%     |
| Insolúveis         | Máx. 0,005%       | < 0,005%      |
| Metais Pesados     | Máx. 0,0005%      | < 0,0005%     |
| Perda por Secagem  | Máx. 0,03%        | < 0,01%       |
| Resíduo de Ignição | Máx. 0,01%        | < 0,01%       |
| Sulfato e Sulfito  | Máx. 0,005%       | < 0,005%      |

Fórmula:  $C_{12}H_{22}O_{11}$

P.M.: 342,30

Rhoster Indústria e Comércio Ltda.

RHOSTER IND. E COM. LTDA. -

*Paula Soares*

**ANEXO D – CERTIFICADO CASEÍNA LÁTEA**

# RHOSTER

INDÚSTRIA E COMÉRCIO LTDA.

## CERTIFICADO DE ANÁLISE

**Produto: Caseína Láctea**  
Lote: 200160  
Fabricado: 02/2001  
Validade: 02/2003  
Procedência: Austrália

| CARACTERÍSTICAS | UNIDADE | RESULTADO |
|-----------------|---------|-----------|
| Proteína        | %       | 92,46     |
| Umidade         | %       | 11,45     |
| Lípides         | %       | 1,45      |
| Cinza           | %       | 1,78      |
| Acidez          | T°      | 44,48     |

Rhoster Indústria e Comércio Ltda.

RHOSTER IND. E COM. LTDA.

*Paula Soares*

**APÊNDICE A – ENSAIO BIOLÓGICO**

P= coleta de peso

C = consumo de ração

CT = colesterol total

**Grupo 1- Controle (5% celulose)**

| Animal       | P18/7(g)      | P19/7(g)      | P24/7(g)      | P26/7(g)      | P31/07(g)     | P02/8 (g)     |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 2            | 268,00        | 259,00        | 276,00        | 279,00        | 298,00        | 305,00        |
| 3            | 263,00        | 268,00        | 250,00        | 261,00        | 284,00        | 284,00        |
| 4            | 276,00        | 277,00        | 288,00        | 286,00        | 305,00        | 313,00        |
| 5            | 227,00        | 222,00        | 244,00        | 225,00        | 226,00        | 236,00        |
| 6            | 272,00        | 272,00        | 275,00        | 279,00        | 306,00        | 306,00        |
| 7            | 261,00        | 242,00        | 254,00        | 260,00        | 275,00        | 283,00        |
| 8            | 277,00        | 279,00        | 279,00        | 255,00        | 268,00        | 263,00        |
| 9            | 253,00        | 256,00        | 276,00        | 282,00        | 280,00        | 290,00        |
| <b>Média</b> | <b>262,13</b> | <b>259,38</b> | <b>267,75</b> | <b>265,88</b> | <b>280,25</b> | <b>285,00</b> |
| <b>DP</b>    | <b>16,32</b>  | <b>19,42</b>  | <b>16,01</b>  | <b>20,20</b>  | <b>25,98</b>  | <b>25,47</b>  |

**Grupo 1- Controle (5% celulose)**

| Animal       | P07/8(g)      | P10/8(g)      | P14/08(g)     | P16/8(g)      | P21/8(g)      | P22/8(g)      |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 2            | 317,00        | 328,00        | 339,00        | 340,00        | 353,00        | 351,00        |
| 3            | 297,00        | 304,00        | 319,00        | 321,00        | 328,00        | 328,00        |
| 4            | 323,00        | 327,00        | 339,00        | 340,00        | 336,00        | 331,00        |
| 5            | 259,00        | 269,00        | 282,00        | 291,00        | 301,00        | 302,00        |
| 6            | 313,00        | 323,00        | 330,00        | 337,00        | 340,00        | 336,00        |
| 7            | 290,00        | 297,00        | 316,00        | 326,00        | 337,00        | 335,00        |
| 8            | 283,00        | 259,00        | 266,00        | 270,00        | 287,00        | 288,00        |
| 9            | 311,00        | 307,00        | 318,00        | 322,00        | 334,00        | 337,00        |
| <b>Média</b> | <b>299,13</b> | <b>301,75</b> | <b>313,63</b> | <b>318,38</b> | <b>327,00</b> | <b>326,00</b> |
| <b>DP</b>    | <b>21,32</b>  | <b>26,00</b>  | <b>26,40</b>  | <b>25,21</b>  | <b>21,88</b>  | <b>20,62</b>  |

**Grupo 1- Controle (5% celulose)**

| Animal       | C1(g)        | C2(g)        | C3(g)        | C4(g)        | C5(g)        | C6 (g)       |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 2            | 8,37         | 23,50        | 23,50        | 20,91        | 23,56        | 24,15        |
| 3            | 14,01        | 25,12        | 25,12        | 17,02        | 20,96        | 14,26        |
| 4            | 4,79         | 19,57        | 19,57        | 22,79        | 34,18        | 24,07        |
| 5            | 26,45        | 28,66        | 28,66        | 19,95        | 19,22        | 10,87        |
| 6            | 24,57        | 31,46        | 31,46        | 29,98        | 29,50        | 16,09        |
| 7            | 16,69        | 22,44        | 22,44        | 29,84        | 24,02        | 8,69         |
| 8            | 20,48        | 10,54        | 10,54        | 22,55        | 20,03        | 10,98        |
| 9            | 27,25        | 35,11        | 35,11        | 25,92        | 26,96        | 21,06        |
| <b>Média</b> | <b>17,83</b> | <b>24,55</b> | <b>24,55</b> | <b>23,62</b> | <b>24,80</b> | <b>16,27</b> |
| <b>DP</b>    | <b>8,37</b>  | <b>7,59</b>  | <b>7,59</b>  | <b>4,64</b>  | <b>5,15</b>  | <b>6,15</b>  |

**Grupo 1- Controle (5% celulose)**

| Animal       | C7(g)        | C8(g)        | C9(g)        | C10 (g)      | C11 (g)      | C12(g)       |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 2            | 22,43        | 22,47        | 22,98        | 22,98        | 26,41        | 24,20        |
| 3            | 16,96        | 22,76        | 21,74        | 21,74        | 23,95        | 24,19        |
| 4            | 24,01        | 23,81        | 27,22        | 27,22        | 25,52        | 26,40        |
| 5            | 6,59         | 5,88         | 3,62         | 3,62         | 5,33         | 17,83        |
| 6            | 22,76        | 22,90        | 8,87         | 8,87         | 24,34        | 23,64        |
| 7            | 23,27        | 23,13        | 25,07        | 25,07        | 25,45        | 25,93        |
| 8            | 3,32         | 0,81         | 13,40        | 13,40        | 19,11        | 20,53        |
| 9            | 24,20        | 0,84         | 22,10        | 22,10        | 21,39        | 26,43        |
| <b>Média</b> | <b>17,94</b> | <b>15,33</b> | <b>18,13</b> | <b>18,13</b> | <b>21,44</b> | <b>23,64</b> |
| <b>DP</b>    | <b>8,38</b>  | <b>10,73</b> | <b>8,47</b>  | <b>8,47</b>  | <b>6,94</b>  | <b>3,04</b>  |

**Grupo 1- Controle (5% celulose)**

| Animal       | C13 (g)      | C14          | C15          | C16          | C17          | C18          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 2            | 23,81        | 33,17        | 30,79        | 25,22        | 25,22        | 28,79        |
| 3            | 23,85        | 30,30        | 31,00        | 18,61        | 18,61        | 27,46        |
| 4            | 25,14        | 32,23        | 32,37        | 20,63        | 20,63        | 24,91        |
| 5            | 25,79        | 34,30        | 35,25        | 22,45        | 22,45        | 22,02        |
| 6            | 23,52        | 34,91        | 30,01        | 21,16        | 21,16        | 29,41        |
| 7            | 26,47        | 31,24        | 28,90        | 18,60        | 18,60        | 25,89        |
| 8            | 23,30        | 32,81        | 34,68        | 16,53        | 16,53        | 18,45        |
| 9            | 26,25        | 30,67        | 32,75        | 17,43        | 17,43        | 30,52        |
| <b>Média</b> | <b>24,77</b> | <b>32,45</b> | <b>31,97</b> | <b>20,08</b> | <b>20,08</b> | <b>25,93</b> |
| <b>DP</b>    | <b>1,30</b>  | <b>1,67</b>  | <b>2,22</b>  | <b>2,87</b>  | <b>2,87</b>  | <b>4,07</b>  |

**Grupo 1- Controle (5% celulose)**

| Animal       | C19          | C20          | C21          | C22          | C23          | C24          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 2            | 26,97        | 27,48        | 26,45        | 26,45        | 24,89        | 24,89        |
| 3            | 28,66        | 25,84        | 28,99        | 28,99        | 27,40        | 27,40        |
| 4            | 29,63        | 27,03        | 27,43        | 27,43        | 25,15        | 25,15        |
| 5            | 31,96        | 27,40        | 27,27        | 27,27        | 26,68        | 26,68        |
| 6            | 30,32        | 25,70        | 30,73        | 30,73        | 27,10        | 27,10        |
| 7            | 25,53        | 26,58        | 26,76        | 26,76        | 27,78        | 27,78        |
| 8            | 25,79        | 21,19        | 18,18        | 18,18        | 14,51        | 14,51        |
| 9            | 23,53        | 21,01        | 29,25        | 29,25        | 24,62        | 24,62        |
| <b>Média</b> | <b>27,80</b> | <b>25,28</b> | <b>26,88</b> | <b>26,88</b> | <b>24,77</b> | <b>24,77</b> |
| <b>DP</b>    | <b>2,82</b>  | <b>2,66</b>  | <b>3,80</b>  | <b>3,80</b>  | <b>4,32</b>  | <b>4,32</b>  |

**Grupo 1- Controle (5% celulose)**

| Animal       | C25          | C26          | C27          | C28          | C29          | C30          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 2            | 28,49        | 28,41        | 23,79        | 25,89        | 24,06        | 25,60        |
| 3            | 28,63        | 28,19        | 22,91        | 24,12        | 24,38        | 23,40        |
| 4            | 26,07        | 28,34        | 19,95        | 25,30        | 20,32        | 20,73        |
| 5            | 25,82        | 26,91        | 21,42        | 25,79        | 20,44        | 23,94        |
| 6            | 25,54        | 27,19        | 23,17        | 25,19        | 24,88        | 23,79        |
| 7            | 29,36        | 30,09        | 24,53        | 28,10        | 23,77        | 24,12        |
| 8            | 24,79        | 30,66        | 24,17        | 22,33        | 28,75        | 16,05        |
| 9            | 24,21        | 29,74        | 25,56        | 24,78        | 27,88        | 20,86        |
| <b>Média</b> | <b>26,61</b> | <b>28,69</b> | <b>23,19</b> | <b>25,19</b> | <b>24,31</b> | <b>22,31</b> |
| <b>DP</b>    | <b>1,94</b>  | <b>1,35</b>  | <b>1,79</b>  | <b>1,64</b>  | <b>3,02</b>  | <b>3,02</b>  |

**Grupo 1- Controle (5% celulose)**

| Animal       | C31          | C32          | C33          | C34          | CT início    | CT meio      |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 2            | 25,60        | 24,43        | 23,64        | 19,78        | 70,50        | 70,7         |
| 3            | 23,40        | 19,58        | 19,79        | 20,32        | 89,40        | 71,4         |
| 4            | 20,73        | 18,27        | 11,95        | 10,73        | 85,70        | 88,2         |
| 5            | 23,94        | 26,17        | 21,26        | 21,15        | 120,20       | 84,7         |
| 6            | 23,79        | 23,38        | 22,23        | 17,36        | 63,50        | 85           |
| 7            | 24,12        | 26,23        | 23,84        | 18,92        | 62,30        | 72,5         |
| 8            | 16,05        | 27,40        | 25,06        | 23,94        | 69,50        | 82,1         |
| 9            | 20,86        | 23,95        | 25,32        | 25,47        | 74,30        | 83,3         |
| <b>Média</b> | <b>22,31</b> | <b>23,68</b> | <b>21,64</b> | <b>19,71</b> | <b>79,43</b> | <b>79,74</b> |
| <b>DP</b>    | <b>3,02</b>  | <b>3,24</b>  | <b>4,34</b>  | <b>4,48</b>  | <b>19,10</b> | <b>7,03</b>  |

**Grupo 1- Controle (5% celulose)**

| Animal       | CT final     | TGL início   | TGL meio      | TGL final     | HDL início   | HDL meio     |
|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
| 2            | 74,5         | 54,00        | 129           | 202           | 15,00        | 43           |
| 3            | 83,6         | 42,00        | 86            | 104           | 13,00        | 38           |
| 4            | 61,7         | 42,00        | 147           | 60            | 17,00        | 41           |
| 5            | 80,9         | 35,00        | 122           | 102           | 20           | 43           |
| 6            | 89,3         | 22,00        | 129           | 116           | 7            | 50           |
| 7            | 79,1         | 109,00       | 102           | 181           | 20           | 33           |
| 8            | 97,6         | 43,00        | 72            | 93            | 17           | 34           |
| 9            | 78,4         | 71,00        | 100           | 98            | 13           | 38           |
| <b>Média</b> | <b>80,64</b> | <b>52,25</b> | <b>110,88</b> | <b>119,50</b> | <b>15,25</b> | <b>40,00</b> |
| <b>DP</b>    | <b>10,52</b> | <b>26,95</b> | <b>25,11</b>  | <b>47,59</b>  | <b>4,30</b>  | <b>5,50</b>  |

**Grupo 1- Controle (5% celulose)**

| Animal       | HDL final    | LDL início   | LDL meio     | LDL final    | VLDL início  | VLDL meio    |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 2            | 34           | 44,7         | 1,9          | 0,1          | 10,8         | 25,8         |
| 3            | 38           | 68           | 16,2         | 24,8         | 8,4          | 17,2         |
| 4            | 49           | 60,3         | 17,8         | 0,7          | 8,4          | 29,4         |
| 5            | 48           | 93,2         | 17,3         | 12,5         | 7            | 24,4         |
| 6            | 39           | 52,1         | 9,2          | 27,1         | 4,4          | 25,8         |
| 7            | 27           | 20,5         | 19,1         | 15,9         | 21,8         | 20,4         |
| 8            | 58           | 43,9         | 33,7         | 21           | 8,6          | 14,4         |
| 9            | 41           | 47,1         | 25,3         | 17,8         | 14,2         | 20           |
| <b>Média</b> | <b>41,75</b> | <b>53,73</b> | <b>17,56</b> | <b>14,99</b> | <b>10,45</b> | <b>22,18</b> |
| <b>DP</b>    | <b>9,68</b>  | <b>21,16</b> | <b>9,56</b>  | <b>10,14</b> | <b>5,39</b>  | <b>5,02</b>  |

**Grupo 1- Controle (5% celulose)**

| Animal       | VLDL final   | Fígado (g)  |
|--------------|--------------|-------------|
| 2            | 40,4         | 11,99       |
| 3            | 20,8         | 9,76        |
| 4            | 12           | 8,52        |
| 5            | 20,4         | 9,96        |
| 6            | 23,2         | 9,89        |
| 7            | 36,2         | 9,83        |
| 8            | 18,6         | 10,06       |
| 9            | 19,6         | 9,44        |
| <b>Média</b> | <b>23,90</b> | <b>9,93</b> |
| <b>DP</b>    | <b>9,52</b>  | <b>0,97</b> |

**Grupo 2 - Salsicha com celulose (5%)**

| Animal       | P18/7(g)      | P19/7(g)      | P24/7(g)      | P26/7(g)      | P31/07(g)     | P02/8 (g)     |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 10           | 213,00        | 213,00        | 168,00        | 152,00        | 147,00        | 147,00        |
| 11           | 236,00        | 236,00        | 280,00        | 273,00        | 298,00        | 301,00        |
| 12           | 250,00        | 244,00        | 261,00        | 251,00        | 266,00        | 270,00        |
| 13           | 228,00        | 230,00        | 256,00        | 264,00        | 286,00        | 285,00        |
| 16           | 278,00        | 258,00        | 279,00        | 280,00        | 297,00        | 297,00        |
| 17           | 231,00        | 239,00        | 242,00        | 233,00        | 244,00        | 252,00        |
| 18           | 270,00        | 249,00        | 274,00        | 278,00        | 295,00        | 297,00        |
| <b>Média</b> | <b>243,71</b> | <b>238,43</b> | <b>251,43</b> | <b>247,29</b> | <b>261,86</b> | <b>264,14</b> |
| <b>DP</b>    | <b>23,51</b>  | <b>14,43</b>  | <b>39,26</b>  | <b>45,19</b>  | <b>54,39</b>  | <b>54,55</b>  |

**Grupo 2 - Salsicha com celulose (5%)**

| Animal       | P07/8(g)      | P10/8(g)      | P14/08(g)     | P16/8(g)      | P21/8(g)      | P22/8(g)      |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 10           | 200,00        | 213,00        | 208,00        | 213,00        | 221,00        | 218,00        |
| 11           | 304,00        | 318,00        | 335,00        | 339,00        | 345,00        | 340,00        |
| 12           | 272,00        | 287,00        | 302,00        | 308,00        | 317,00        | 312,00        |
| 13           | 284,00        | 295,00        | 304,00        | 311,00        | 317,00        | 310,00        |
| 16           | 297,00        | 310,00        | 315,00        | 321,00        | 325,00        | 320,00        |
| 17           | 260,00        | 262,00        | 270,00        | 274,00        | 279,00        | 273,00        |
| 18           | 296,00        | 307,00        | 315,00        | 323,00        | 332,00        | 327,00        |
| <b>Média</b> | <b>273,29</b> | <b>284,57</b> | <b>292,71</b> | <b>298,43</b> | <b>305,14</b> | <b>300,00</b> |
| <b>DP</b>    | <b>35,79</b>  | <b>36,55</b>  | <b>42,20</b>  | <b>42,63</b>  | <b>42,33</b>  | <b>41,69</b>  |

**Grupo 2 - Salsicha com celulose (5%)**

| Animal       | C1(g)        | C2(g)        | C3(g)        | C4(g)        | C5(g)        | C6 (g)       |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 10           | 13,12        | 10,17        | 10,17        | Zero         | 2,55         | 1,55         |
| 11           | 18,08        | 32,20        | 32,20        | 22,06        | 39,97        | 26,90        |
| 12           | 38,65        | 32,11        | 32,11        | 25,37        | 37,36        | 24,77        |
| 13           | 35,55        | 32,31        | 32,31        | 27,01        | 34,76        | 26,86        |
| 16           | 22,96        | 30,48        | 30,48        | 28,45        | 32,56        | 26,71        |
| 17           | 26,58        | 31,82        | 31,82        | 27,62        | 29,66        | 25,63        |
| 18           | 27,79        | 34,05        | 34,05        | 25,45        | 37,28        | 23,02        |
| <b>Média</b> | <b>26,10</b> | <b>29,02</b> | <b>29,02</b> | <b>25,99</b> | <b>30,59</b> | <b>22,21</b> |
| <b>DP</b>    | <b>9,06</b>  | <b>8,38</b>  | <b>8,38</b>  | <b>2,27</b>  | <b>12,83</b> | <b>9,22</b>  |

**Grupo 2 - Salsicha com celulose (5%)**

| Animal       | C7(g)        | C8(g)        | C9(g)        | C10 (g)      | C11 (g)      | C12(g)       |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 10           | 1,64         | 10,83        | 7,32         | 7,32         | 24,42        | 23,59        |
| 11           | 28,19        | 26,57        | 21,94        | 21,94        | 26,12        | 27,47        |
| 12           | 25,42        | 18,49        | 12,74        | 12,74        | 27,38        | 26,58        |
| 13           | 28,08        | 26,23        | 27,23        | 27,23        | 26,48        | 26,65        |
| 16           | 28,00        | 26,61        | 7,44         | 7,44         | 26,83        | 24,41        |
| 17           | 19,45        | 23,73        | 23,44        | 23,44        | 26,61        | 27,93        |
| 18           | 25,93        | 26,07        | 8,34         | 8,34         | 29,89        | 28,45        |
| <b>Média</b> | <b>22,39</b> | <b>22,65</b> | <b>15,49</b> | <b>15,49</b> | <b>26,82</b> | <b>26,44</b> |
| <b>DP</b>    | <b>9,65</b>  | <b>5,97</b>  | <b>8,49</b>  | <b>8,49</b>  | <b>1,64</b>  | <b>1,81</b>  |

**Grupo 2 - Salsicha com celulose (5%)**

| Animal       | C13 (g)      | C14          | C15          | C16          | C17          | C18          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 10           | 25,14        | 33,17        | 29,15        | 29,09        | 29,09        | 33,16        |
| 11           | 27,11        | 37,70        | 33,23        | 24,84        | 24,84        | 30,16        |
| 12           | 27,14        | 39,09        | 38,28        | 28,77        | 28,77        | 31,81        |
| 13           | 27,53        | 35,21        | 26,16        | 20,80        | 20,80        | 20,42        |
| 16           | 26,73        | 26,03        | 32,76        | 18,40        | 18,40        | 23,94        |
| 17           | 28,72        | 38,82        | 36,50        | 20,62        | 20,62        | 33,05        |
| 18           | 30,46        | 40,50        | 35,69        | 24,72        | 24,72        | 33,27        |
| <b>Média</b> | <b>27,55</b> | <b>35,79</b> | <b>33,11</b> | <b>23,89</b> | <b>23,89</b> | <b>29,40</b> |
| <b>DP</b>    | <b>1,67</b>  | <b>4,97</b>  | <b>4,26</b>  | <b>4,14</b>  | <b>4,14</b>  | <b>5,15</b>  |

**Grupo 2 - Salsicha com celulose (5%)**

| Animal       | C19          | C20          | C21          | C22          | C23          | C24          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 10           | 34,63        | 31,90        | 31,54        | 31,54        | 13,26        | 13,26        |
| 11           | 23,36        | 27,64        | 30,51        | 30,51        | 26,47        | 26,47        |
| 12           | 16,57        | 20,83        | 30,54        | 30,54        | 24,06        | 24,06        |
| 13           | 20,13        | 23,73        | 30,14        | 30,14        | 29,33        | 29,33        |
| 16           | 29,08        | 23,54        | 28,64        | 28,64        | 28,45        | 28,45        |
| 17           | 33,47        | 27,90        | 31,60        | 31,60        | 23,57        | 23,57        |
| 18           | 31,98        | 21,80        | 31,56        | 31,56        | 26,86        | 26,86        |
| <b>Média</b> | <b>27,03</b> | <b>25,33</b> | <b>30,65</b> | <b>30,65</b> | <b>24,57</b> | <b>24,57</b> |
| <b>DP</b>    | <b>7,05</b>  | <b>3,95</b>  | <b>1,07</b>  | <b>1,07</b>  | <b>5,41</b>  | <b>5,41</b>  |

**Grupo 2 - Salsicha com celulose (5%)**

| Animal       | C25          | C26          | C27          | C28          | C29          | C30          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 10           | 21,05        | 17,59        | 20,94        | 19,81        | 18,26        | 21,08        |
| 11           | 29,50        | 34,97        | 23,76        | 29,53        | 23,69        | 25,40        |
| 12           | 26,27        | 33,11        | 20,13        | 34,82        | 24,36        | 26,29        |
| 13           | 26,98        | 28,08        | 24,43        | 30,40        | 25,76        | 29,02        |
| 16           | 27,80        | 28,95        | 22,86        | 32,97        | 23,55        | 27,42        |
| 17           | 30,94        | 31,13        | 25,61        | 32,26        | 19,46        | 21,23        |
| 18           | 29,33        | 33,61        | 24,29        | 32,04        | 25,10        | 27,69        |
| <b>Média</b> | <b>27,41</b> | <b>29,63</b> | <b>23,15</b> | <b>30,26</b> | <b>22,88</b> | <b>25,45</b> |
| <b>DP</b>    | <b>3,23</b>  | <b>5,87</b>  | <b>1,98</b>  | <b>4,92</b>  | <b>2,87</b>  | <b>3,14</b>  |

**Grupo 2 - Salsicha com celulose (5%)**

| Animal       | C31          | C32          | C33          | C34          | CT início    | CT meio      |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 10           | 21,08        | 23,56        | 17,98        | 10,75        | 108,9        | 97,9         |
| 11           | 25,40        | 27,86        | 26,37        | 17,12        | 78,5         | 74,4         |
| 12           | 26,29        | 29,58        | 24,42        | 19,72        | 83,6         | 84,2         |
| 13           | 29,02        | 28,16        | 25,15        | 16,68        | 68           | 79,3         |
| 16           | 27,42        | 27,49        | 22,78        | 19,85        | 98,8         | 83,9         |
| 17           | 21,23        | 29,32        | 29,54        | 14,81        | 110,2        | 88,8         |
| 18           | 27,69        | 30,96        | 26,71        | 18,80        | 84,7         | 72,4         |
| <b>Média</b> | <b>25,45</b> | <b>28,13</b> | <b>24,71</b> | <b>16,82</b> | <b>90,39</b> | <b>82,99</b> |
| <b>DP</b>    | <b>3,14</b>  | <b>2,34</b>  | <b>3,64</b>  | <b>3,23</b>  | <b>15,95</b> | <b>8,74</b>  |

**Grupo 2 - Salsicha com celulose (5%)**

| Animal       | CT final     | TGL início   | TGL meio     | TGL final    | HDL início   | HDL meio     |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 10           | 78,4         | 58           | 59           | 74           | 28           | 61           |
| 11           | 65,3         | 49           | 81           | 138          | 11           | 36           |
| 12           | 77,9         | 87           | 79           | 89           | 15           | 37           |
| 13           | 77,1         | 30           | 92           | 108          | 14           | 50           |
| 16           | 84,7         | 93           | 77           | 45           | 25           | 40           |
| 17           | 84,8         | 47           | 45           | 56           | 16           | 49           |
| 18           | 85,1         | 35           | 44           | 74           | 20           | 39           |
| <b>Média</b> | <b>79,04</b> | <b>90,39</b> | <b>68,14</b> | <b>83,43</b> | <b>18,43</b> | <b>44,57</b> |
| <b>DP</b>    | <b>7,03</b>  | <b>15,95</b> | <b>18,85</b> | <b>31,67</b> | <b>6,19</b>  | <b>9,14</b>  |

**Grupo 2 - Salsicha com celulose (5%)**

| Animal       | HDL final    | LDL início   | LDL meio     | LDL final    | VLDL início  | VLDL meio    |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 10           | 42           | 69,3         | 25,1         | 21,6         | 11,6         | 11,8         |
| 11           | 31           | 57,7         | 22,2         | 6,7          | 9,8          | 16,2         |
| 12           | 49           | 51,2         | 31,4         | 11,1         | 17,4         | 15,8         |
| 13           | 47           | 48           | 10,9         | 8,5          | 6            | 18,4         |
| 16           | 45           | 55,2         | 28,5         | 30,7         | 18,6         | 15,4         |
| 17           | 51           | 84,8         | 30,8         | 22,6         | 9,4          | 9            |
| 18           | 48           | 57,7         | 24,6         | 22,3         | 7            | 8,8          |
| <b>Média</b> | <b>44,71</b> | <b>60,56</b> | <b>24,79</b> | <b>17,64</b> | <b>11,40</b> | <b>13,63</b> |
| <b>DP</b>    | <b>6,70</b>  | <b>12,61</b> | <b>6,99</b>  | <b>8,93</b>  | <b>4,88</b>  | <b>3,77</b>  |

**Grupo 2 - Salsicha com celulose (5%)**

| Animal       | VLDL final   | Fígado (g)  |
|--------------|--------------|-------------|
| 10           | 40,4         | 11,99       |
| 11           | 20,8         | 9,76        |
| 12           | 12           | 8,52        |
| 13           | 20,4         | 9,96        |
| 16           | 23,2         | 9,89        |
| 17           | 36,2         | 9,83        |
| 18           | 18,6         | 10,06       |
| <b>Média</b> | <b>19,6</b>  | <b>9,44</b> |
| <b>DP</b>    | <b>23,90</b> | <b>9,93</b> |

**Grupo 3 -Salsicha com quitosana (5%)**

| Animal       | P19/7(g)      | P24/7(g)      | P26/7(g)      | P31/07(g)     | P02/8 (g)     | P07/8(g)      |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 19           | 237,00        | 264,00        | 250,00        | 256,00        | 259,00        | 262,00        |
| 21           | 228,00        | 264,00        | 252,00        | 278,00        | 279,00        | 250,00        |
| 22           | 260,00        | 258,00        | 240,00        | 270,00        | 277,00        | 286,00        |
| 24           | 257,00        | 275,00        | 260,00        | 276,00        | 281,00        | 270,00        |
| 25           | 241,00        | 278,00        | 259,00        | 280,00        | 285,00        | 304,00        |
| 26           | 227,00        | 275,00        | 266,00        | 284,00        | 271,00        | 291,00        |
| 27           | 282,00        | 282,00        | 257,00        | 278,00        | 281,00        | 307,00        |
| <b>Média</b> | <b>247,43</b> | <b>270,86</b> | <b>254,86</b> | <b>274,57</b> | <b>276,14</b> | <b>281,43</b> |
| <b>DP</b>    | <b>19,96</b>  | <b>8,84</b>   | <b>8,41</b>   | <b>9,22</b>   | <b>8,71</b>   | <b>21,49</b>  |

**Grupo 3 -Salsicha com quitosana (5%)**

| Animal       | P10/8(g)      | P14/08(g)     | P16/8(g)      | P21/8(g)      | P23/8(g)      |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 19           | 274,00        | 282,00        | 290,00        | 302,00        | 307,00        |
| 21           | 286,00        | 300,00        | 304,00        | 325,00        | 311,00        |
| 22           | 290,00        | 300,00        | 307,00        | 316,00        | 315,00        |
| 24           | 286,00        | 301,00        | 309,00        | 321,00        | 315,00        |
| 25           | 276,00        | 305,00        | 320,00        | 330,00        | 328,00        |
| 26           | 302,00        | 295,00        | 305,00        | 317,00        | 312,00        |
| 27           | 303,00        | 324,00        | 328,00        | 340,00        | 333,00        |
| <b>Média</b> | <b>288,14</b> | <b>301,00</b> | <b>309,00</b> | <b>321,57</b> | <b>317,29</b> |
| <b>DP</b>    | <b>11,35</b>  | <b>12,54</b>  | <b>12,17</b>  | <b>11,96</b>  | <b>9,53</b>   |

**Grupo 3 -Salsicha com quitosana (5%)**

| Animal       | C1(g)        | C2(g)        | C3(g)        | C4(g)        | C5(g)        | C6 (g)       |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 19           | 40,73        | 30,79        | 30,79        | 29,74        | 32,93        | 26,90        |
| 21           | 26,80        | 30,27        | 30,27        | 28,38        | 35,07        | 26,96        |
| 22           | 42,69        | 29,34        | 29,34        | 20,31        | 22,38        | 11,74        |
| 24           | 22,61        | 26,87        | 26,87        | 21,73        | 27,32        | 26,88        |
| 25           | 41,76        | 31,16        | 31,16        | 25,16        | 43,12        | 26,82        |
| 26           | 22,26        | 31,16        | 31,16        | 28,59        | 39,30        | 26,97        |
| 27           | 42,94        | 31,33        | 31,33        | 29,02        | 30,75        | 16,02        |
| <b>Média</b> | <b>34,26</b> | <b>30,13</b> | <b>30,13</b> | <b>26,13</b> | <b>32,98</b> | <b>23,18</b> |
| <b>DP</b>    | <b>9,83</b>  | <b>1,60</b>  | <b>1,60</b>  | <b>3,80</b>  | <b>7,03</b>  | <b>6,48</b>  |

**Grupo 3 -Salsicha com quitosana (5%)**

| Animal       | C7(g)        | C8(g)        | C9(g)        | C10 (g)      | C11 (g)      | C12(g)       |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 19           | 21,96        | 8,90         | 2,62         | 2,62         | 25,80        | 29,42        |
| 21           | 26,33        | 24,26        | 20,48        | 20,48        | 30,20        | 28,76        |
| 22           | 17,51        | 18,21        | 17,62        | 17,62        | 30,33        | 28,36        |
| 24           | 24,01        | 15,16        | 2,80         | 2,80         | 30,13        | 25,03        |
| 25           | 12,29        | 25,52        | 13,76        | 13,76        | 30,29        | 26,55        |
| 26           | 26,86        | 26,12        | 16,58        | 16,58        | 30,08        | 26,97        |
| 27           | 6,16         | 0,81         | 21,92        | 21,92        | 29,13        | 28,51        |
| <b>Média</b> | <b>19,30</b> | <b>17,00</b> | <b>13,68</b> | <b>13,68</b> | <b>29,42</b> | <b>27,66</b> |
| <b>DP</b>    | <b>7,75</b>  | <b>9,50</b>  | <b>7,95</b>  | <b>7,95</b>  | <b>1,65</b>  | <b>1,54</b>  |

**Grupo 3 -Salsicha com quitosana (5%)**

| Animal       | C13 (g)      | C14          | C15          | C16          | C17          | C18          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 19           | 27,54        | 36,72        | 30,94        | 22,01        | 22,01        | 30,97        |
| 21           | 27,02        | 36,34        | 39,21        | 2,42         | 2,42         | 29,89        |
| 22           | 26,71        | 36,35        | 27,25        | 28,34        | 28,34        | 32,79        |
| 24           | 27,51        | 40,06        | 32,34        | 28,80        | 28,80        | 12,82        |
| 25           | 26,25        | 40,10        | 35,32        | 28,26        | 28,26        | 31,22        |
| 26           | 26,33        | 29,51        | 27,25        | 23,72        | 23,72        | 31,22        |
| 27           | 27,97        | 40,00        | 39,34        | 27,67        | 27,67        | 31,60        |
| <b>Média</b> | <b>27,05</b> | <b>37,01</b> | <b>33,09</b> | <b>23,03</b> | <b>23,03</b> | <b>28,64</b> |
| <b>DP</b>    | <b>0,65</b>  | <b>3,76</b>  | <b>5,08</b>  | <b>9,46</b>  | <b>9,46</b>  | <b>7,03</b>  |

**Grupo 3 -Salsicha com quitosana (5%)**

| Animal       | C19          | C20          | C21          | C22          | C23          | C24          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 19           | 29,00        | 30,29        | 28,39        | 28,39        | 29,22        | 29,22        |
| 21           | 11,87        | 27,58        | 31,41        | 31,41        | 32,19        | 32,19        |
| 22           | 33,52        | 16,91        | 31,32        | 31,32        | 30,87        | 30,87        |
| 24           | 15,85        | 21,77        | 28,99        | 28,99        | 31,80        | 31,80        |
| 25           | 35,63        | 36,48        | 9,98         | 9,98         | 32,32        | 32,32        |
| 26           | 34,93        | 31,15        | 32,00        | 32,00        | 24,89        | 24,89        |
| 27           | 38,90        | 37,65        | 32,30        | 32,30        | 32,25        | 32,25        |
| <b>Média</b> | <b>28,53</b> | <b>28,83</b> | <b>27,77</b> | <b>27,77</b> | <b>30,51</b> | <b>30,51</b> |
| <b>DP</b>    | <b>10,51</b> | <b>7,50</b>  | <b>7,99</b>  | <b>7,99</b>  | <b>2,71</b>  | <b>2,71</b>  |

**Grupo 3 -Salsicha com quitosana (5%)**

| Animal       | C25          | C26          | C27          | C28          | C29          | C30          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 19           | 30,39        | 25,43        | 27,30        | 30,44        | 28,92        | 34,42        |
| 21           | 32,49        | 35,12        | 28,72        | 29,21        | 31,15        | 28,79        |
| 22           | 30,53        | 27,00        | 29,73        | 30,95        | 27,52        | 27,78        |
| 24           | 30,66        | 27,31        | 20,59        | 33,01        | 20,24        | 27,37        |
| 25           | 35,13        | 36,64        | 30,88        | 34,19        | 24,61        | 32,89        |
| 26           | 21,66        | 24,53        | 23,61        | 27,29        | 24,43        | 34,19        |
| 27           | 33,34        | 29,73        | 30,19        | 25,30        | 24,05        | 28,93        |
| <b>Média</b> | <b>30,60</b> | <b>29,39</b> | <b>27,29</b> | <b>30,06</b> | <b>25,85</b> | <b>30,62</b> |
| <b>DP</b>    | <b>4,31</b>  | <b>4,74</b>  | <b>3,82</b>  | <b>3,10</b>  | <b>3,62</b>  | <b>3,09</b>  |

**Grupo 3 -Salsicha com quitosana (5%)**

| Animal       | C31          | C32          | C33          | C34          | CT início    | CT meio      |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 19           | 34,42        | 27,95        | 27,86        | 33,50        | 88,70        | 84,00        |
| 21           | 28,79        | 30,67        | 29,14        | 27,12        | 75,50        | 67,50        |
| 22           | 27,78        | 29,06        | 27,65        | 32,20        | 78,00        | 71,10        |
| 24           | 27,37        | 28,62        | 30,34        | 28,21        | 87,70        | 78,70        |
| 25           | 32,89        | 31,72        | 30,08        | 35,94        | 81,40        | 81,40        |
| 26           | 34,19        | 27,68        | 28,19        | 35,44        | 98,30        | 87,70        |
| 27           | 28,93        | 29,91        | 24,99        | 32,36        | 76,30        | 90,20        |
| <b>Média</b> | <b>30,62</b> | <b>29,37</b> | <b>28,32</b> | <b>32,11</b> | <b>83,70</b> | <b>80,09</b> |
| <b>DP</b>    | <b>3,09</b>  | <b>1,47</b>  | <b>1,81</b>  | <b>3,36</b>  | <b>8,31</b>  | <b>8,35</b>  |

**Grupo 3 -Salsicha com quitosana (5%)**

| Animal       | CT final     | TGL início   | TGL meio     | TGL final     | HDL início   | HDL meio     |
|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|
| 19           | 101,60       | 95,00        | 71,00        | 99,00         | 21,00        | 50           |
| 21           | 89,90        | 37,00        | 40,00        | 164,00        | 13,00        | 40           |
| 22           | 89,70        | 44,00        | 60,00        | 112,00        | 18,00        | 44           |
| 24           | 81,80        | 52,00        | 96,00        | 120,00        | 18,00        | 44           |
| 25           | 80,30        | 105,00       | 95,00        | 164,00        | 9,00         | 46           |
| 26           | 78,50        | 69,00        | 150,00       | 105,00        | 15,00        | 52           |
| 27           | 84,10        | 38,00        | 55,00        | 108,00        | 12,00        | 48           |
| <b>Média</b> | <b>86,56</b> | <b>62,86</b> | <b>81,00</b> | <b>124,57</b> | <b>15,14</b> | <b>81,00</b> |
| <b>DP</b>    | <b>7,96</b>  | <b>27,71</b> | <b>36,70</b> | <b>27,69</b>  | <b>4,14</b>  | <b>36,70</b> |

**Grupo 3 -Salsicha com quitosana (5%)**

| Animal       | HDL final    | LDL início   | LDL meio     | LDL final    | VLDL início  | VLDL meio    |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 19           | 40,00        | 48,70        | 19,80        | 41,80        | 19,00        | 14,20        |
| 21           | 26,00        | 55,10        | 19,50        | 31,10        | 7,40         | 8            |
| 22           | 27,00        | 51,20        | 15,10        | 40,30        | 8,80         | 12           |
| 24           | 28,00        | 59,30        | 15,50        | 29,80        | 10,40        | 19,2         |
| 25           | 34,00        | 51,40        | 16,40        | 13,50        | 21,00        | 19           |
| 26           | 29,00        | 69,50        | 5,70         | 28,50        | 13,80        | 30           |
| 27           | 34,00        | 56,70        | 31,20        | 28,50        | 7,60         | 11           |
| <b>Média</b> | <b>31,14</b> | <b>55,99</b> | <b>17,60</b> | <b>30,50</b> | <b>12,57</b> | <b>16,20</b> |
| <b>DP</b>    | <b>5,05</b>  | <b>6,98</b>  | <b>7,61</b>  | <b>9,32</b>  | <b>5,54</b>  | <b>7,34</b>  |

**Grupo 3 -Salsicha com quitosana (5%)**

| Animal       | VLDL final   | Fígado (g)  |
|--------------|--------------|-------------|
| 19           | 19,80        | 9,97        |
| 21           | 32,80        | 7,92        |
| 22           | 22,40        | 7,69        |
| 24           | 24,00        | 8,58        |
| 25           | 32,80        | 9,49        |
| 26           | 21,00        | 8,32        |
| 27           | 21,60        | 8,87        |
| <b>Média</b> | <b>24,91</b> | <b>8,69</b> |
| <b>DP</b>    | <b>5,54</b>  | <b>0,82</b> |

**Grupo 4 - Salsicha com quitosana (5%) com ácido láctico**

| Animal       | P19/7(g)      | P24/7(g)      | P26/7(g)      | P31/07(g)     | P02/8 (g)     | P07/8(g)      |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 28           | 229,00        | 258,00        | 242,00        | 233,00        | 236,00        | 257,00        |
| 29           | 279,00        | 283,00        | 284,00        | 322,00        | 325,00        | 332,00        |
| 30           | 256,00        | 278,00        | 282,00        | 305,00        | 317,00        | 310,00        |
| 31           | 286,00        | 276,00        | 281,00        | 305,00        | 306,00        | 328,00        |
| 32           | 252,00        | 277,00        | 269,00        | 288,00        | 295,00        | 304,00        |
| 33           | 288,00        | 264,00        | 236,00        | 270,00        | 266,00        | 272,00        |
| 34           | 257,00        | 251,00        | 250,00        | 263,00        | 259,00        | 268,00        |
| 36           | 253,00        | 254,00        | 246,00        | 273,00        | 276,00        | 284,00        |
| <b>Media</b> | <b>262,50</b> | <b>267,63</b> | <b>261,25</b> | <b>282,38</b> | <b>285,00</b> | <b>294,38</b> |
| <b>DP</b>    | <b>20,25</b>  | <b>12,36</b>  | <b>19,88</b>  | <b>28,49</b>  | <b>30,90</b>  | <b>28,24</b>  |

**Grupo 4 - Salsicha com quitosana (5%) com ácido láctico**

| Animal       | P10/8(g)      | P14/08(g)     | P16/8(g)      | P21/8(g)      | P23/8(g)      |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 28           | 265,00        | 277,00        | 292,00        | 282,00        | 272,00        |
| 29           | 340,00        | 341,00        | 346,00        | 352,00        | 355,00        |
| 30           | 310,00        | 330,00        | 332,00        | 337,00        | 332,00        |
| 31           | 324,00        | 330,00        | 333,00        | 343,00        | 336,00        |
| 32           | 304,00        | 310,00        | 318,00        | 330,00        | 325,00        |
| 33           | 281,00        | 286,00        | 288,00        | 294,00        | 292,00        |
| 34           | 270,00        | 286,00        | 277,00        | 287,00        | 276,00        |
| 36           | 282,00        | 297,00        | 303,00        | 311,00        | 311,00        |
| <b>Media</b> | <b>297,00</b> | <b>307,13</b> | <b>311,13</b> | <b>317,00</b> | <b>312,38</b> |
| <b>DP</b>    | <b>26,81</b>  | <b>24,22</b>  | <b>24,81</b>  | <b>27,15</b>  | <b>29,98</b>  |

**Grupo 4 - Salsicha com quitosana (5%) com ácido láctico**

| Animal       | C1(g)        | C2(g)        | C3(g)        | C4(g)        | C5(g)        | C6 (g)       |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 28           | 25,31        | 31,11        | 31,11        | 20,85        | 26,37        | 15,79        |
| 29           | 29,03        | 25,10        | 25,10        | 16,36        | 24,36        | 20,10        |
| 30           | 34,25        | 22,45        | 22,45        | 25,39        | 32,53        | 28,10        |
| 31           | 33,45        | 26,76        | 26,76        | 12,71        | 6,85         | 28,15        |
| 32           | 36,52        | 30,35        | 30,35        | 24,59        | 30,62        | 28,10        |
| 33           | 28,75        | 26,35        | 26,35        | 22,37        | 15,69        | 6,01         |
| 34           | 27,85        | 33,10        | 33,10        | 19,44        | 15,64        | 4,23         |
| 36           | 24,04        | 26,41        | 26,41        | 16,52        | 20,96        | 17,74        |
| <b>Media</b> | <b>29,90</b> | <b>27,70</b> | <b>27,70</b> | <b>19,78</b> | <b>21,63</b> | <b>18,53</b> |
| <b>DP</b>    | <b>4,42</b>  | <b>3,52</b>  | <b>3,52</b>  | <b>4,39</b>  | <b>8,62</b>  | <b>9,62</b>  |

**Grupo 4 - Salsicha com quitosana (5%) com ácido láctico**

| Animal       | C7(g)        | C8(g)        | C9(g)        | C10 (g)      | C11 (g)      | C12(g)       |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 28           | 3,64         | 15,84        | 17,06        | 17,06        | 9,10         | 18,51        |
| 29           | 20,70        | 25,45        | 28,69        | 28,69        | 30,11        | 28,10        |
| 30           | 26,95        | 26,71        | 13,55        | 13,55        | 30,16        | 28,21        |
| 31           | 26,08        | 26,09        | 28,85        | 28,85        | 30,56        | 28,04        |
| 32           | 25,95        | 16,14        | 22,50        | 22,50        | 30,34        | 27,05        |
| 33           | 3,03         | 4,17         | 5,23         | 5,23         | 29,95        | 28,00        |
| 34           | 9,02         | 2,34         | 9,12         | 9,12         | 22,15        | 19,23        |
| 36           | 19,62        | 17,32        | 16,52        | 16,52        | 30,42        | 29,18        |
| <b>Media</b> | <b>16,87</b> | <b>16,76</b> | <b>17,69</b> | <b>17,69</b> | <b>26,60</b> | <b>25,79</b> |
| <b>DP</b>    | <b>10,14</b> | <b>9,48</b>  | <b>8,59</b>  | <b>8,59</b>  | <b>7,62</b>  | <b>4,31</b>  |

**Grupo 4 - Salsicha com quitosana (5%) com ácido láctico**

| Animal       | C13 (g)      | C14          | C15          | C16          | C17          | C18          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 28           | 22,65        | 34,03        | 36,70        | 20,35        | 20,35        | 32,28        |
| 29           | 27,65        | 40,06        | 28,67        | 24,74        | 24,74        | 24,74        |
| 30           | 27,98        | 35,46        | 23,02        | 22,04        | 22,04        | 25,80        |
| 31           | 27,93        | 40,16        | 38,54        | 28,72        | 28,72        | 32,78        |
| 32           | 27,24        | 38,02        | 35,20        | 25,00        | 25,00        | 32,81        |
| 33           | 26,73        | 40,26        | 40,30        | 26,59        | 26,59        | 24,42        |
| 34           | 22,73        | 28,21        | 23,49        | 10,90        | 10,90        | 27,47        |
| 36           | 29,17        | 41,54        | 36,17        | 26,75        | 26,75        | 26,77        |
| <b>Media</b> | <b>26,51</b> | <b>37,22</b> | <b>32,76</b> | <b>23,14</b> | <b>23,14</b> | <b>28,38</b> |
| <b>DP</b>    | <b>2,46</b>  | <b>4,47</b>  | <b>6,77</b>  | <b>5,62</b>  | <b>5,62</b>  | <b>3,65</b>  |

**Grupo 4 - Salsicha com quitosana (5%) com ácido láctico**

| Animal       | C19          | C20          | C21          | C22          | C23          | C24          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 28           | 22,80        | 23,33        | 31,52        | 31,52        | 25,27        | 25,27        |
| 29           | 27,50        | 30,66        | 29,57        | 29,57        | 25,91        | 25,91        |
| 30           | 20,73        | 20,46        | 26,65        | 26,65        | 26,19        | 26,19        |
| 31           | 32,76        | 34,24        | 27,75        | 27,75        | 26,50        | 26,50        |
| 32           | 28,90        | 32,65        | 28,82        | 28,82        | 18,67        | 18,67        |
| 33           | 20,80        | 25,80        | 25,29        | 25,29        | 24,62        | 24,62        |
| 34           | 24,91        | 23,69        | 25,44        | 25,44        | 22,03        | 22,03        |
| 36           | 15,67        | 17,26        | 24,70        | 24,70        | 24,18        | 24,18        |
| <b>Media</b> | <b>24,26</b> | <b>26,01</b> | <b>27,47</b> | <b>27,47</b> | <b>24,17</b> | <b>24,17</b> |
| <b>DP</b>    | <b>5,41</b>  | <b>6,02</b>  | <b>2,39</b>  | <b>2,39</b>  | <b>2,64</b>  | <b>2,64</b>  |

**Grupo 4 - Salsicha com quitosana (5%) com ácido láctico**

| Animal       | C25          | C26          | C27          | C28          | C29          | C30          |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 28           | 20,54        | 20,49        | 20,69        | 30,00        | 22,61        | 28,88        |
| 29           | 24,56        | 25,65        | 23,28        | 23,37        | 25,99        | 22,07        |
| 30           | 23,48        | 34,52        | 19,75        | 28,67        | 20,03        | 23,12        |
| 31           | 24,45        | 30,28        | 22,05        | 26,68        | 24,06        | 25,15        |
| 32           | 30,55        | 33,25        | 23,96        | 30,78        | 25,83        | 26,92        |
| 33           | 21,11        | 24,87        | 20,77        | 22,11        | 20,71        | 17,03        |
| 34           | 15,11        | 32,63        | 19,19        | 19,49        | 27,08        | 18,41        |
| 36           | 24,71        | 26,75        | 21,81        | 28,56        | 21,91        | 22,32        |
| <b>Media</b> | <b>23,06</b> | <b>28,56</b> | <b>21,44</b> | <b>26,21</b> | <b>23,53</b> | <b>22,99</b> |
| <b>DP</b>    | <b>4,42</b>  | <b>4,89</b>  | <b>1,66</b>  | <b>4,09</b>  | <b>2,62</b>  | <b>4,01</b>  |

**Grupo 4 - Salsicha com quitosana (5%) com ácido láctico**

| Animal       | C31          | C32          | C33          | C34          | CT início    | CT meio      |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 28           | 28,88        | 27,17        | 24,68        | 26,81        | 99,70        | 97,30        |
| 29           | 22,07        | 22,37        | 22,94        | 29,73        | 99,50        | 85,40        |
| 30           | 23,12        | 25,05        | 21,03        | 35,84        | 96,30        | 82,90        |
| 31           | 25,15        | 26,63        | 26,20        | 26,12        | 108,80       | 104,10       |
| 32           | 26,92        | 24,48        | 28,25        | 31,58        | 74,20        | 76,10        |
| 33           | 17,03        | 30,47        | 19,47        | 26,37        | 97,60        | 77,00        |
| 34           | 18,41        | 25,67        | 17,31        | 24,98        | 96,30        | 75,10        |
| 36           | 22,32        | 24,55        | 26,35        | 31,84        | 86,90        | 70,20        |
| <b>Media</b> | <b>22,99</b> | <b>25,80</b> | <b>23,28</b> | <b>29,16</b> | <b>94,91</b> | <b>83,51</b> |
| <b>DP</b>    | <b>4,01</b>  | <b>2,39</b>  | <b>3,78</b>  | <b>3,74</b>  | <b>10,29</b> | <b>11,73</b> |

**Grupo 4 - Salsicha com quitosana (5%) com ácido láctico**

| Animal       | CT final     | TGL início   | TGL meio     | TGL final    | HDL início   | HDL meio     |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 28           | 112,80       | 59,00        | 109,00       | 131,00       | 30           | 60,50        |
| 29           | 72,60        | 60,00        | 100,00       | 74,00        | 20           | 43,00        |
| 30           | 74,30        | 89,00        | 85,00        | 122,00       | 21           | 49,00        |
| 31           | 107,60       | 46,00        | 38,00        | 81,00        | 26           | 62,00        |
| 32           | 73,60        | 45,00        | 43,00        | 93,00        | 27           | 54,00        |
| 33           | 77,70        | 69,00        | 30,00        | 90,00        | 19           | 45,00        |
| 34           | 94,70        | 45,00        | 36,00        | 66,00        | 17           | 48,00        |
| 36           | 75,50        | 118,00       | 43,00        | 45,00        | 22           | 38,00        |
| <b>Media</b> | <b>86,10</b> | <b>66,38</b> | <b>60,50</b> | <b>87,75</b> | <b>22,75</b> | <b>49,94</b> |
| <b>DP</b>    | <b>16,52</b> | <b>25,66</b> | <b>31,99</b> | <b>28,31</b> | <b>4,46</b>  | <b>8,39</b>  |

**Grupo 4 - Salsicha com quitosana (5%) com ácido láctico**

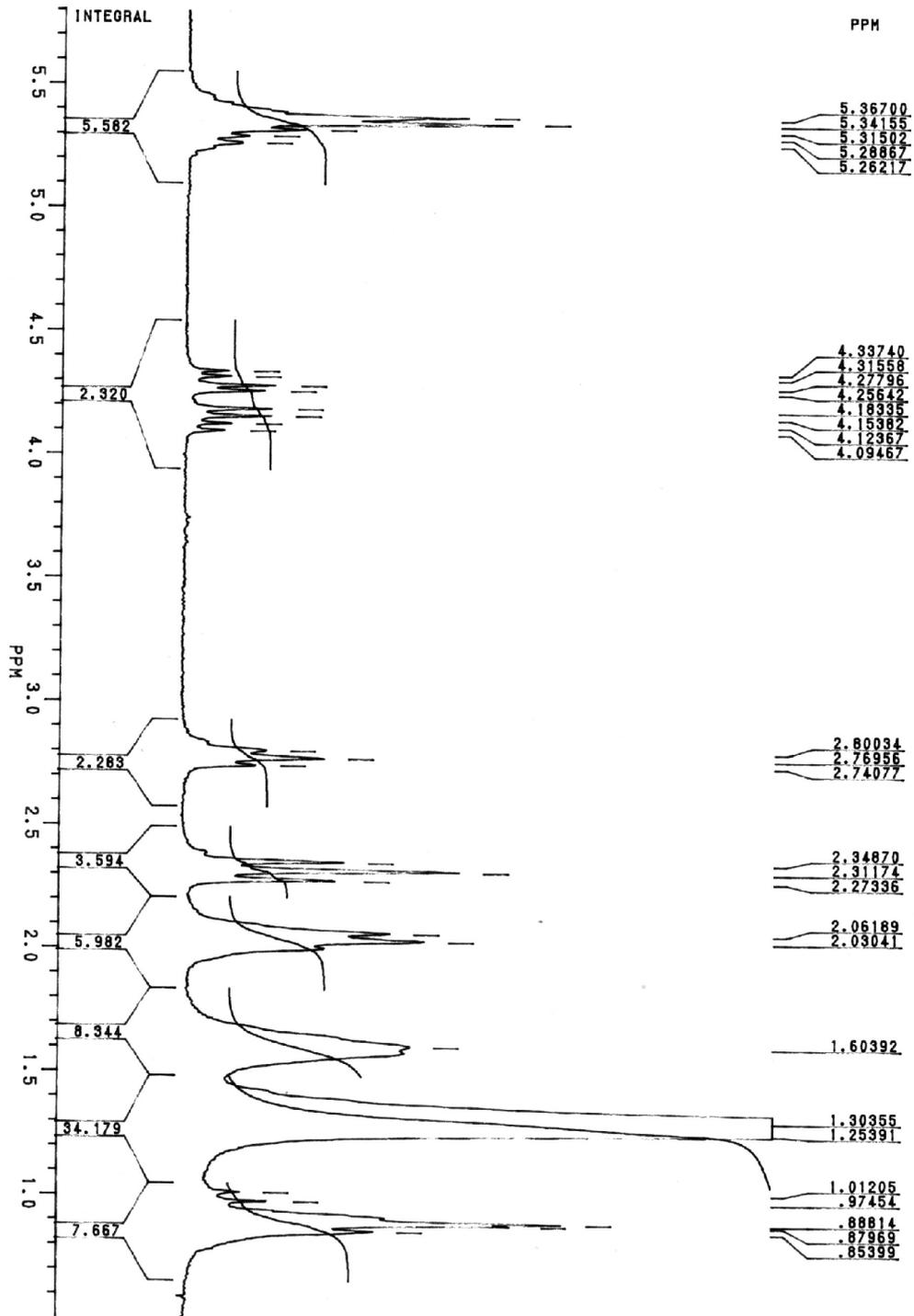
| Animal       | HDL final    | LDL início   | LDL meio     | LDL final    | VLDL início  | VLDL meio    |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 28           | 41,00        | 57,90        | 15,00        | 45,60        | 11,80        | 21,80        |
| 29           | 23,00        | 67,50        | 22,40        | 34,80        | 12,00        | 20,00        |
| 30           | 28,00        | 57,50        | 16,90        | 21,90        | 17,80        | 17,00        |
| 31           | 35,00        | 73,60        | 34,50        | 56,40        | 9,20         | 7,60         |
| 32           | 32,00        | 38,20        | 13,50        | 23,00        | 9,00         | 8,60         |
| 33           | 27,00        | 64,80        | 26,00        | 32,70        | 13,80        | 6,00         |
| 34           | 29,00        | 70,30        | 19,90        | 52,50        | 9,00         | 7,20         |
| 36           | 23,00        | 41,30        | 23,60        | 43,50        | 23,60        | 8,60         |
| <b>Media</b> | <b>29,75</b> | <b>58,89</b> | <b>21,48</b> | <b>38,80</b> | <b>13,28</b> | <b>12,10</b> |
| <b>DP</b>    | <b>6,11</b>  | <b>13,07</b> | <b>6,81</b>  | <b>12,84</b> | <b>5,13</b>  | <b>6,40</b>  |

**Grupo 4 - Salsicha com quitosana (5%) com ácido láctico**

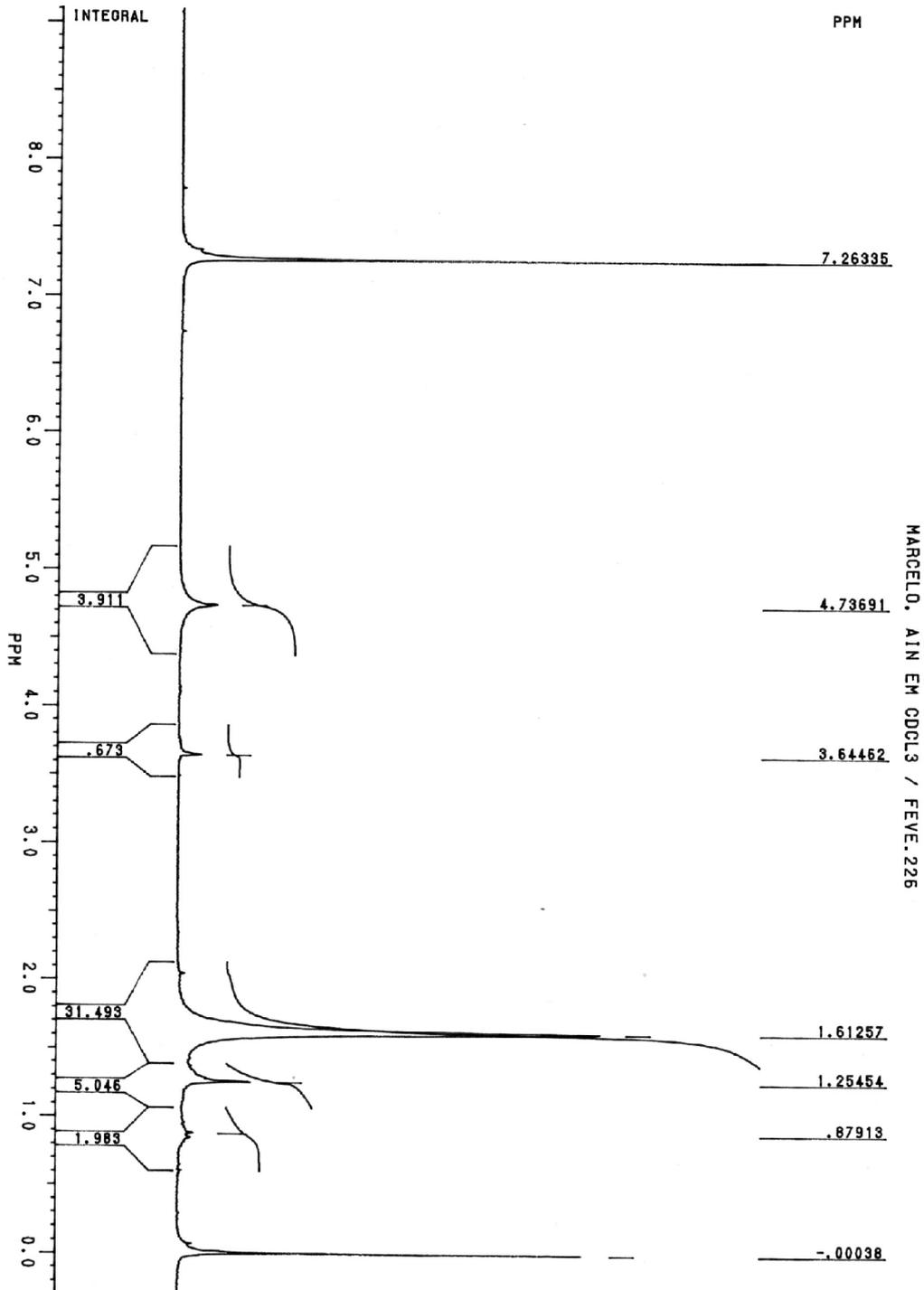
| Animal       | VLDL final   | Fígado (g)  |
|--------------|--------------|-------------|
| 28           | 26,20        | 7,33        |
| 29           | 14,80        | 10,13       |
| 30           | 24,40        | 9,43        |
| 31           | 16,20        | 9,66        |
| 32           | 18,60        | 8,53        |
| 33           | 18,00        | 7,84        |
| 34           | 13,20        | 7,00        |
| 36           | 9,00         | 8,39        |
| <b>Media</b> | <b>17,55</b> | <b>8,54</b> |
| <b>DP</b>    | <b>5,66</b>  | <b>1,13</b> |

**APÊNDICE B – ESPECTROS DE  $^1\text{H}$ -NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE**

FOOD

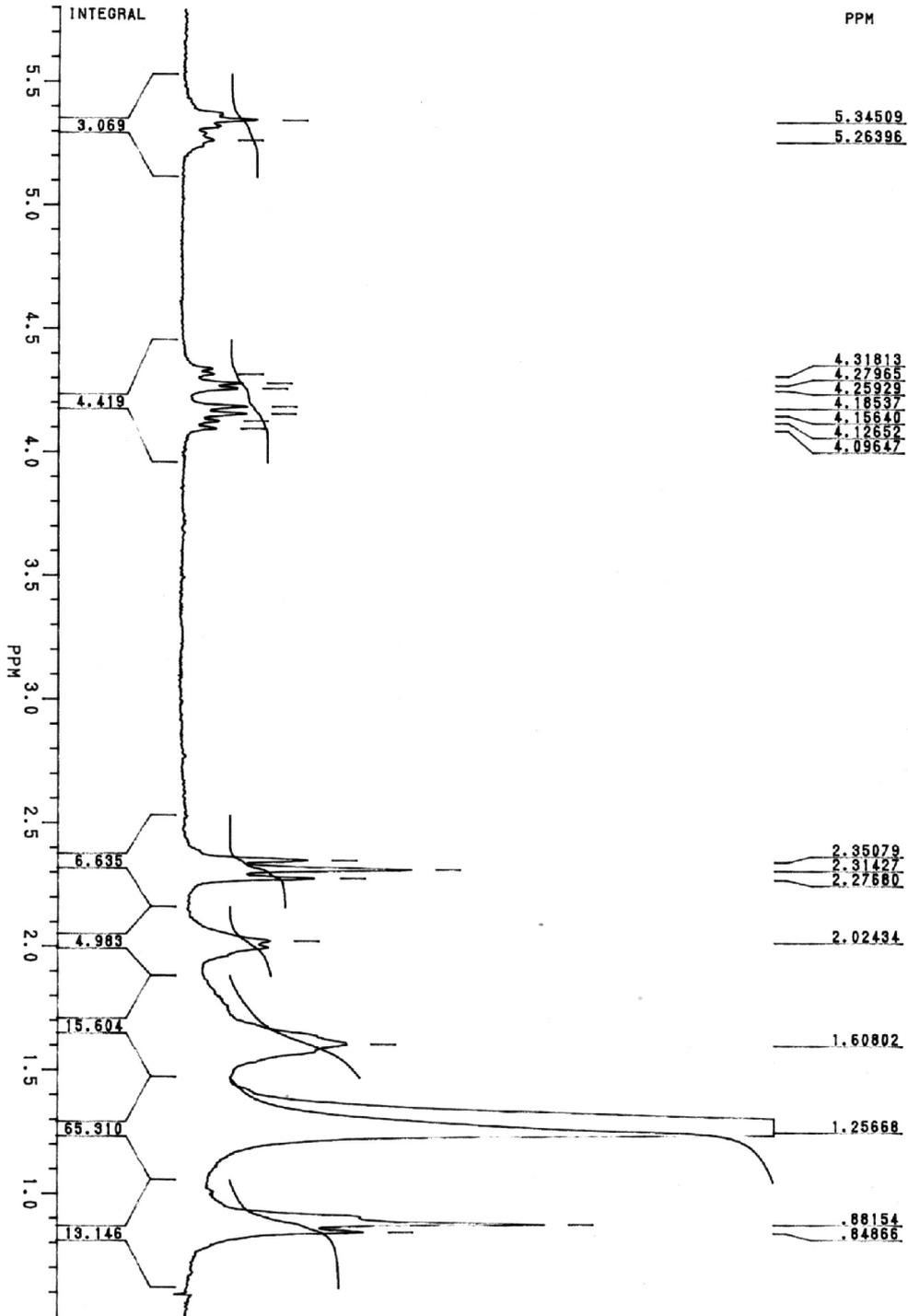


## FECES

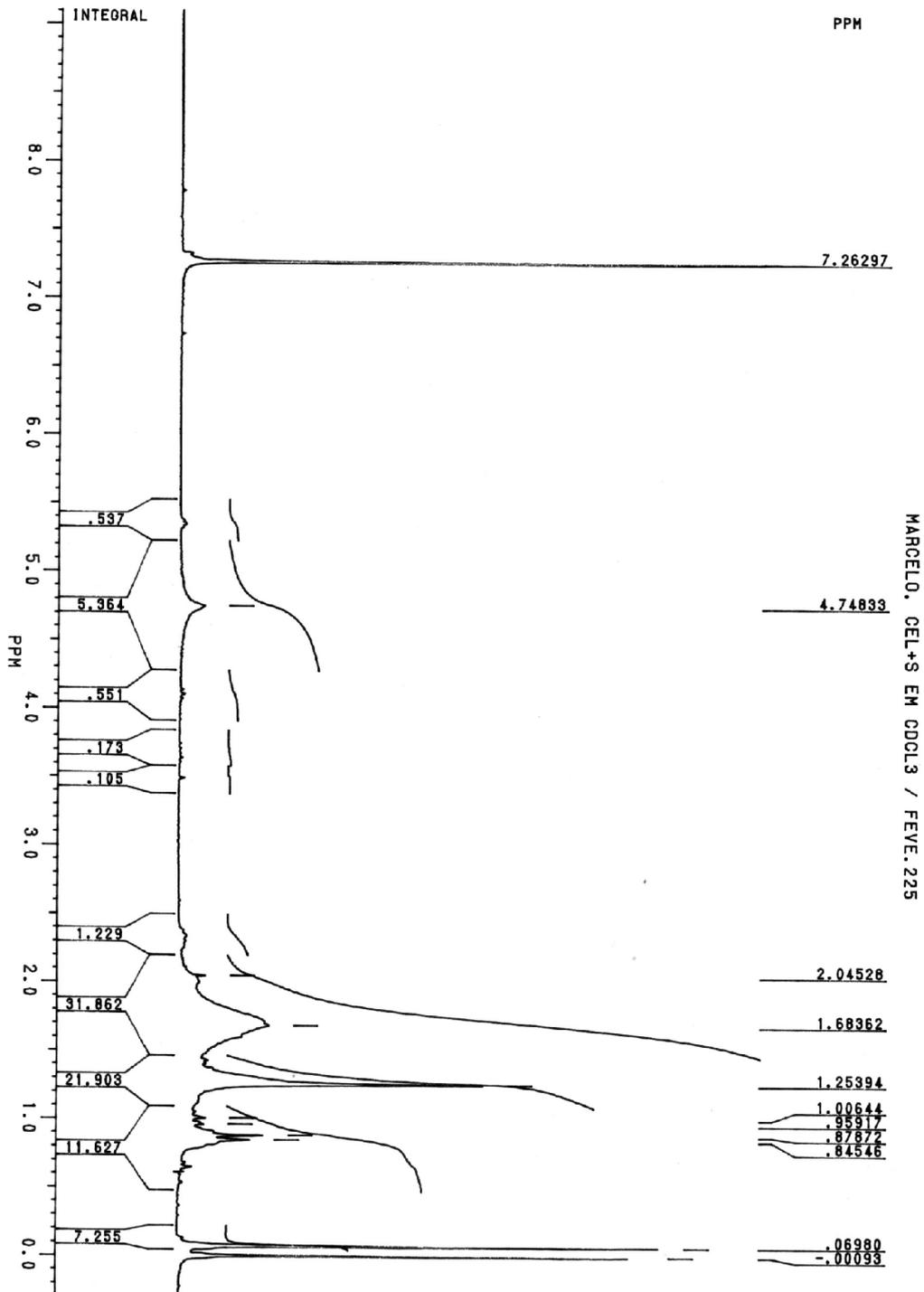


FECES

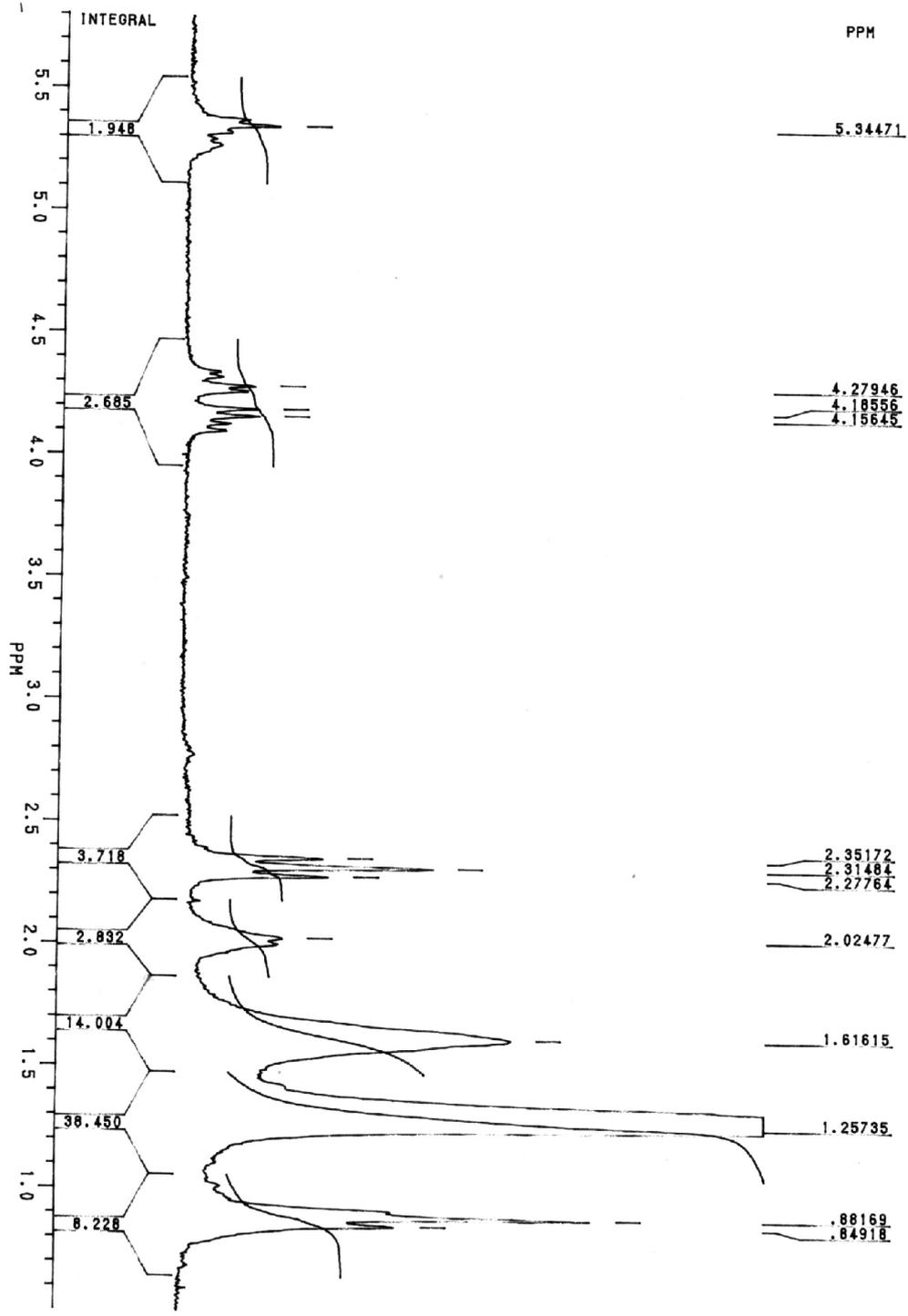
FOOD



## FECES



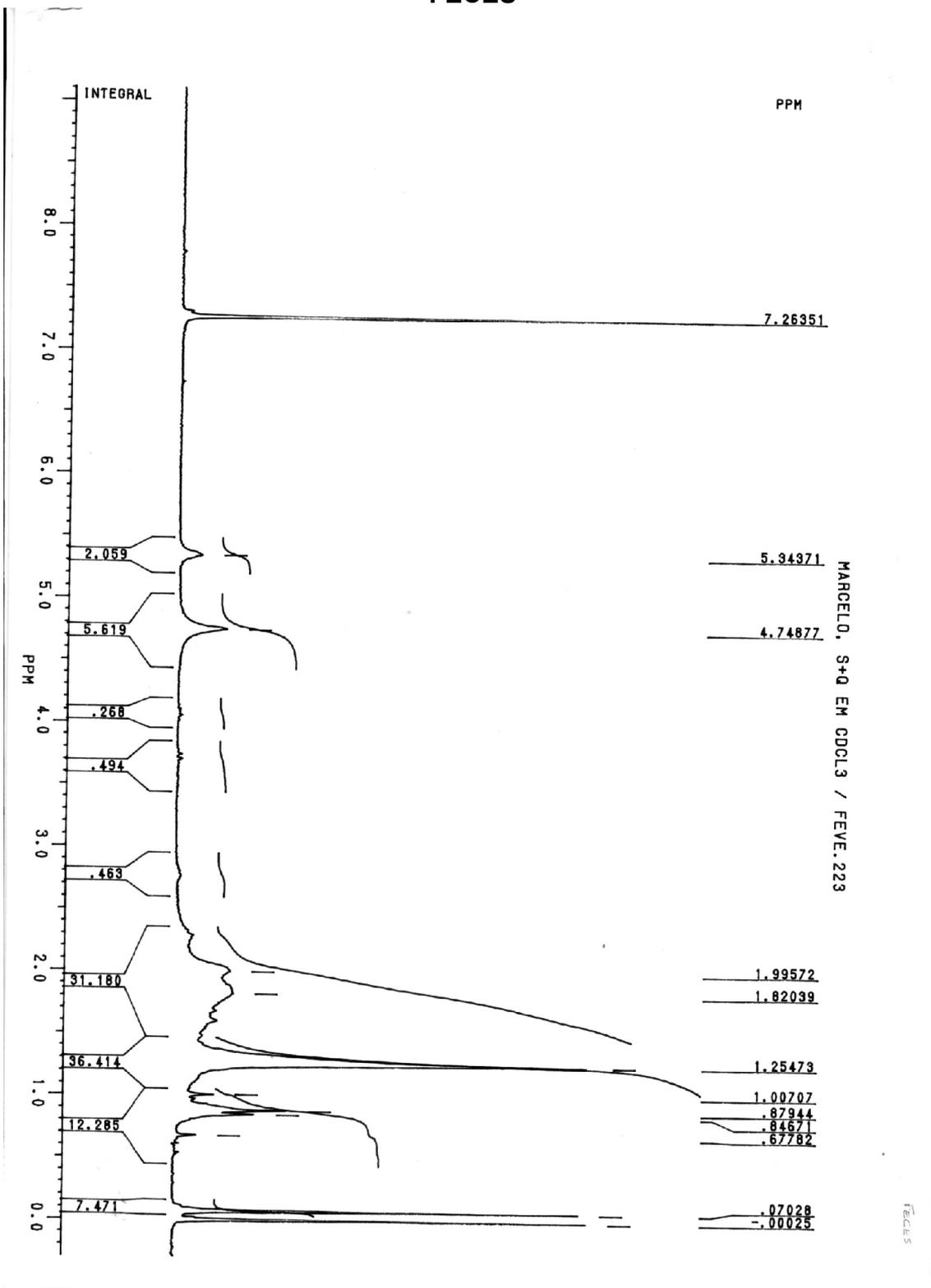
FOOD



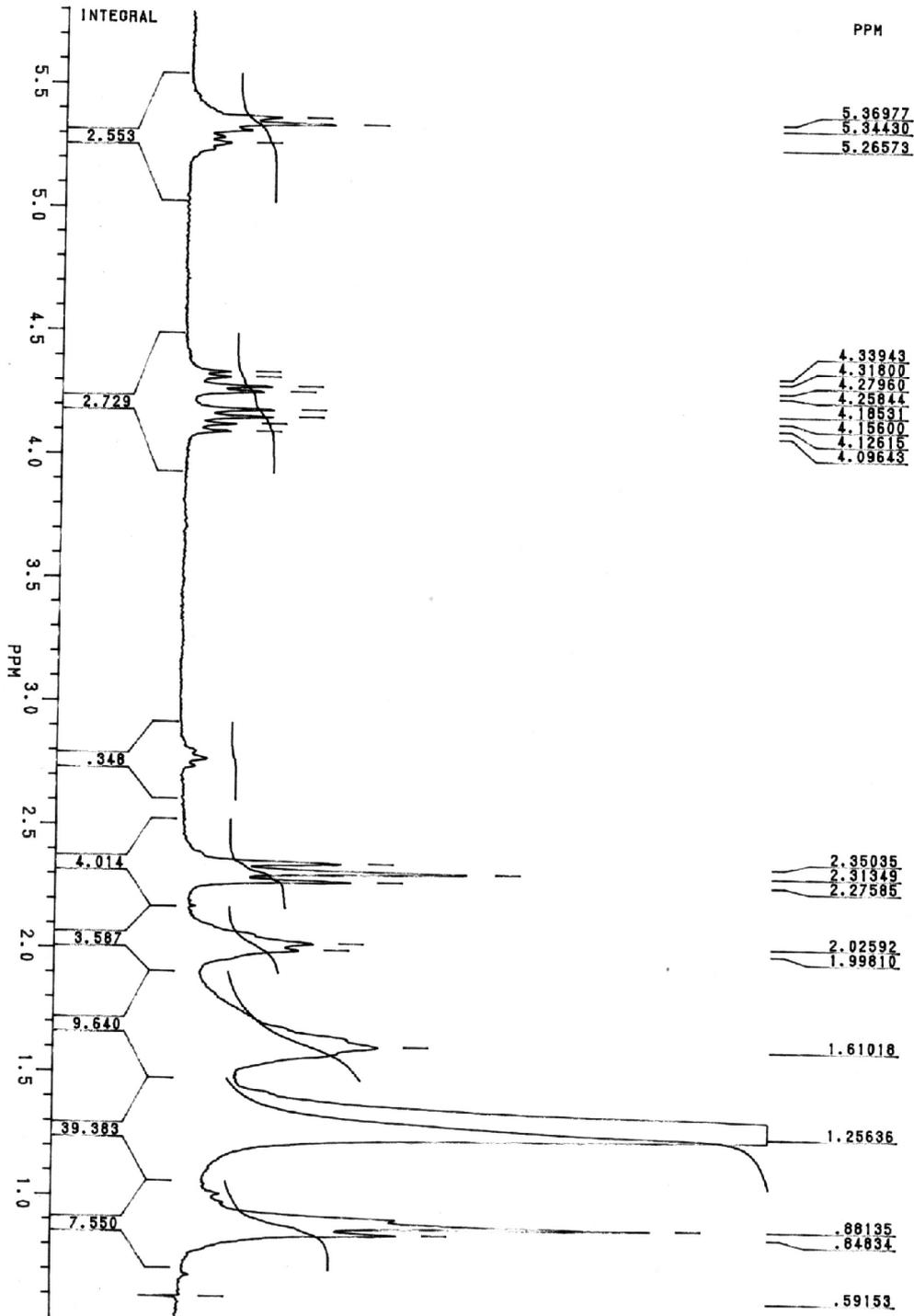
MARCELO, S+Q EM CDCL3 / DEZEMBRO, 277

1002

FECES



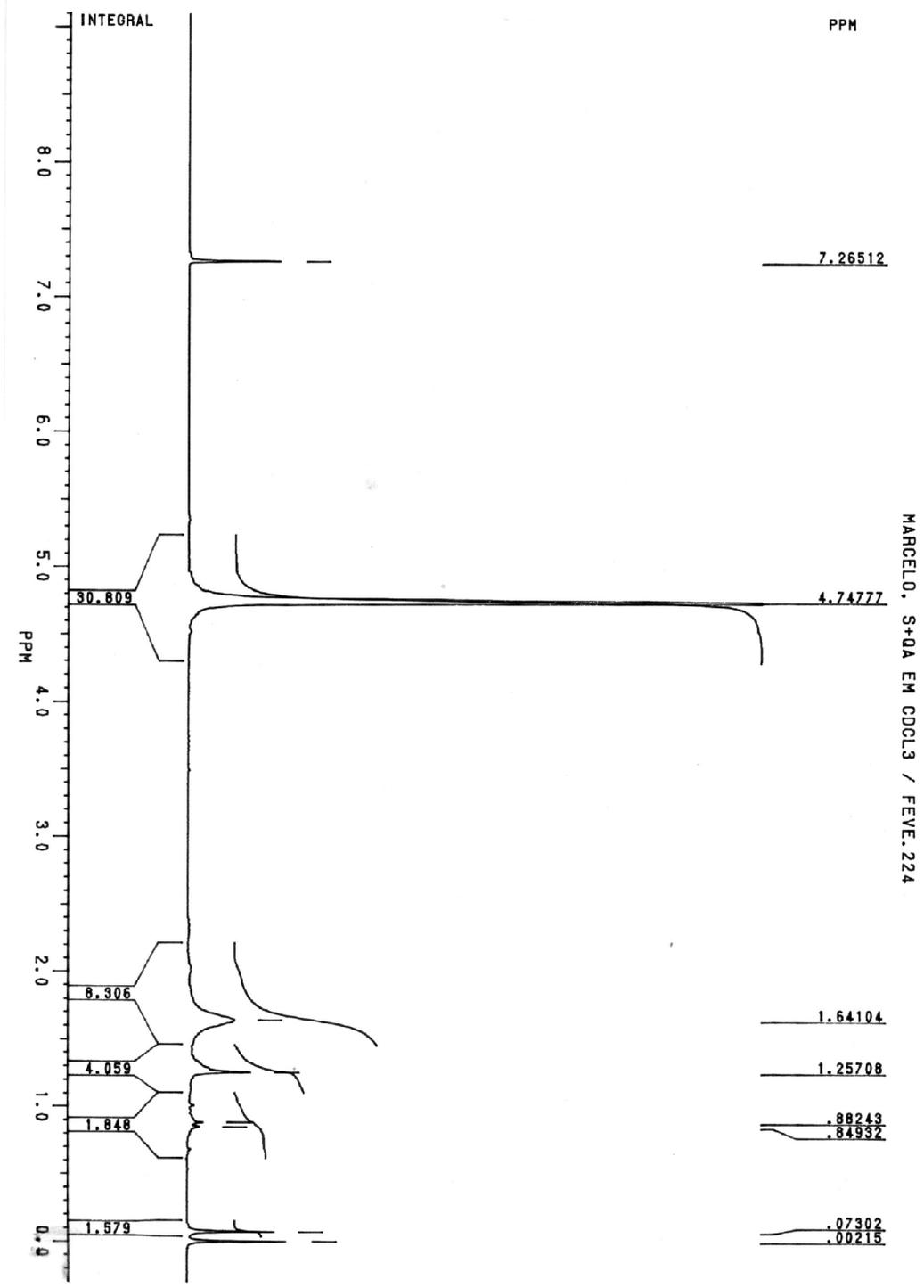
FOOD



MARCELO, S+QA EM CDCL3 / DEZEMBRO, 279

(10)

# FECES



FECES

**APÊNDICE C – PLANILHA DE AVALIAÇÃO DO PERFIL DE TEXTURA  
SENSORIAL**

## PERFIL DE TEXTURA - SALSICHAS

Nome: \_\_\_\_\_ Data  
 \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Avalie a amostra e assinale com um traço vertical a intensidade percebida para cada característica de textura nas escalas abaixo:

**Fase Inicial**

**Dureza** – força necessária para comprimir com os molares, língua e pálato, até a ruptura do alimento. O produto é colocado entre os molares e, mastigando suavemente, de forma homogênea.

\_\_\_\_\_|\_\_\_\_\_  
 Baixa alta

**Elasticidade** – Grau com que o material retorna a sua forma primitiva, após ter sido submetido à uma força.

\_\_\_\_\_|\_\_\_\_\_  
 Baixa alta

**Fase mastigatória**

**Fraturabilidade** – Força requerida para que um alimentos se quebre, esmigalhe ou rache. Está representada em alimentos com alto grau de dureza e baixo grau de coesividade.

\_\_\_\_\_|\_\_\_\_\_  
 Baixa alta

**Gomosidade** – Espessura que persiste através da mastigação, encontrada em produtos semi-sólidos e com alto teor de dureza e elevado grau de coesividade; energia requerida para desintegrar um alimento semi-sólido ao ponto ideal para deglutição.

\_\_\_\_\_|\_\_\_\_\_  
 Baixa alta

**Mastigabilidade** – Velocidade de mastigação constante (um movimento por segundo) até o momento em que o alimento está pronto para ser deglutido. "Número de mastigadas".

\_\_\_\_\_|\_\_\_\_\_  
 Baixa alta

**Adesividade** – Força requerida para remover o material que se adere na boca. Termos descritivos mais utilizados são pegajoso, viscoso

\_\_\_\_\_|\_\_\_\_\_  
 Baixa alta

**Liberação de umidade** – Percepção da quantidade de umidade liberada pela amostra.

\_\_\_\_\_|\_\_\_\_\_  
 Baixa

**APÊNDICE D – ANÁLISE DO PERFIL DE TEXTURA INSTRUMENTAL**



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Unidade Laboratorial de Referência de Análises Físicas,  
Sensoriais e Estatística – Núcleo LAFISE

## ANEXO 1

**Análise do perfil de textura resulta em uma curva característica de onde são obtidos os parâmetros do TPA, conforme apresentado a seguir.**

- Firmeza:** Termo genérico que descreve a propriedade de um material sólido/semi-sólido de apresentar resistência à deformação. O pico 2 mestra o ponto característico da firmeza do produto.
- Fraturabilidade:** É a força necessária para fraturar a estrutura do produto, que no TPA é representada pela menor resistência medida (Força 3).
- Adesividade:** É a medida do trabalho necessário para retirar o corpo de prova (probe) da amostra e está representada pela área negativa entre os pontos 3 e 4.
- Elasticidade:** É a velocidade que o material retorna a sua forma original após deformado, é calculada pela relação entre o tempo decorrido nos pontos 4,5 e 1:2.
- Coesividade:** É a resistência que o produto oferece para romper as suas ligações internas. Na curva do TPA este parâmetro é medido pela razão entre as áreas A4:5 e A1:2.
- Gomosidade:** É a energia requerida para desintegrar um produto semi-sólido e é calculada no TPA como o produto resultante do valor de firmeza versus coesividade.
- Mastigabilidade:** É a energia requerida para desintegrar um produto sólido e é calculada no TPA como o produto resultante do valor de firmeza versus gomosidade.

