



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

OBTENÇÃO E APLICAÇÃO DE QUITOSANA DE CAMARÃO “SABURICA”,
Macrobrachium jelskii (MIERS, 1877) COMO BIOFILME EM MANGA (*Mangífera indica*
L.) MINIMAMENTE PROCESSADA

Mônica Carvalho Santos

SÃO CRISTOVÃO-SE

Fevereiro/ 2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

OBTENÇÃO E APLICAÇÃO DE QUITOSANA DE CAMARÃO “SABURICA”,
Macrobrachium jelskii (MIERS, 1877) COMO BIOFILME EM MANGA (*Mangífera indica*
L.) MINIMAMENTE PROCESSADA

Mônica Carvalho Santos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito
parcial à obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Nunes

Co-orientador: Prof^o. Dr. Marcelo Augusto Gutierrez Carnelossi

SÃO CRISTÓVÃO – SE

Fevereiro/2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

OBTENÇÃO E APLICAÇÃO DE QUITOSANA DE CAMARÃO “SABURICA”,
Macrobrachium jelskii (MIERS, 1877) COMO BIOFILME EM MANGA (*Mangifera indica*
L.) MINIMAMENTE PROCESSADA

Autora: Mônica Carvalho Santos

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Nunes

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Nunes
Orientador(a)/ NUCTA - UFS

Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva
Membro interno/DTA - EFS

Prof^o. Dr^o. Ricardo Targino Moreira
Membro Externo/DEA - UFPB

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Santos, Mônica Carvalho
S237o Obtenção e aplicação de quitosana de camarão “saborica”,
Macrobrachium jelskii (Miers, 1877) como biofilme em manga
(*Mangífera indica* L.) minimamente processada / Mônica Carvalho
Santos. – São Cristóvão, 2011.
viii, 56 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)
– Núcleo de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, 2011.

Orientador: Profª Drª Maria Lúcia Nunes.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Crustáceo. 3. Quitina –
Desacetilação. I. Título.

CDU 664:595.384.1

Mônica Carvalho Santos, 28 anos, solteira, graduada em Engenharia de alimentos pela Universidade Federal de Sergipe (2009).

AGRADECIMENTOS

Especialmente a Deus, pela presença constante em minha vida e por toda força nos momentos difíceis.

À minha mãe Maria Augusta, ao meu pai Jaime e ao meu irmão Hugo pelo amor, suporte, força e incentivo, sempre.

À Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Nunes, pela amizade e dedicação e, principalmente, pela orientação valiosa no desenvolvimento deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva pelo apoio dado na execução deste trabalho.

Aos professores Dr. Marcelo Augusto Carnelossi e Dra. Luciana Cristina Lins pela contribuição no uso de alguns equipamentos essenciais para a concretização deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Tatiana Nunes pela preciosa ajuda nas análises microbiológicas.

As minhas amigas de laboratório Ana Tereza, Anne, Carol, Beth pela amizade e por toda ajuda durante a realização deste trabalho. Valeu Amigas!

À Capes pela bolsa concedida.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para realização dessa etapa de minha vida, meu sincero reconhecimento e agradecimento.

OBTENÇÃO E APLICAÇÃO DE QUITOSANA DE CAMARÃO “SABURICA”,
Macrobrachium jelskii (MIERS, 1877) COMO BIOFILME EM MANGA (*Mangífera indica*
L.) MINIMAMENTE PROCESSADA

RESUMO

O *Macrobrachium jelskii* é um camarão de água doce, de pequeno porte, muito abundante na região do baixo São Francisco sergipano, sendo denominada de “siburica” pelos pescadores, apresentando potencialidades para obtenção de quitina. A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza estando presente principalmente em exoesqueletos de crustáceos, enquanto a quitosana é um polímero de alta massa molecular, resultado da desacetilação parcial da quitina, com as seguintes características: não-toxicidade, capacidade de formar filmes resistentes, biodegradabilidade, atividades antimicrobiana e cicatrizante permitem que essa substância seja utilizada em diversas áreas. Em virtude da importância destes biopolímeros, o presente trabalho foi proposto com o objetivo de obter a quitosana a partir do camarão da espécie *Macrobrachium jelskii* e seu uso como biofilme comestível em mangas minimamente processadas, utilizando-se as concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0% de quitosana. Foram avaliados sólidos solúveis totais, acidez titulável, ácido ascórbico, pH, análise sensorial e análise microbiológicas das mangas com o biofilme de quitosana e do controle. Os resultados indicaram que o uso de biofilme de quitosana na concentração 1% foi o mais eficiente em manter a cor e a aparência das mangas. Em relação ao brilho houve um decréscimo linear em todas as amostras, sendo que a amostra controle apresentou um menor valor para este atributo. Resultado semelhante foi verificado quando este parâmetro foi avaliado com o auxílio de um colorímetro. Em relação ao período de armazenamento avaliado o uso de biofilme nas concentrações estudadas não apresentaram ação antifúngica em mangas minimamente processadas.

Palavras-chave: crustáceos, quitina, biopolímeros, desacetilação.

OBTAINMENT AND APPLICATION OF CHITOSAN FROM “SABURICA” SHRIMP,
Macrobrachium jelskii (MIERS, 1877) AS BIOFILM ON MINIMALLY PROCESSED
MANGOES (*Mangífera indica* L.)

ABSTRACT

Macrobrachium jelskii is a shrimp, of a small-size, abundant in the São Francisco region in Sergipe, been known as “Saburica” by the fishermen, with a great potencial to obtain chitin. Chitin is the second more abundant polysaccharide in the nature being mainly present in the crustaceans exoskeletons and the chitosan is a polymer with a high molecular weight, result of partial deacetylation of chitin, whose characteristics are: non-toxicity substance, capacity to form resistant films, biodegradability, anti-microbial and healing activity allow the application in several different areas. In virtue of the importance of these biopolymers, the present work has been proposed with the objective of obtaining chitosan from shrimp of the *Macrobrachium jelskii* species and its use as edible biofilm in minimally processed mangoes, using the chitosan concentrations of 0,25%, 0,5% e 1,0%. Have been evaluated soluble solids (SS), titrable acidity (AT), ascorbic acid (AA), pH, sensory analysis and microbiological analysis of the mangoes with the chitosan coating and control. The results indicated that the chitosan biofilm used in concentration 1% had been the most efficient, keeping the color and the appearance of the mangoes. There was a linear decrease of the brightness of all samples, and the control sample presented a lower value on this attribute. Similar result was verified when this parameter was evaluated with a colorimeter. On the storage time evaluated the use of biofilm on the analysed concentrations did not show antibacterial action on minimally processed mangoes.

Keywords: crustaceans, chitin, biopolymers, deacetylation.

PUBLICAÇÕES

CIRILO, A. T. O., SANTOS, M. C., NUNES, M. L.; Estudo da aceitabilidade sensorial de torta de camarão durante a estocagem congelada. **XVI Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca – XVI CONBEP**, Natal-RN, out,2009.

CIRILO, A. T. O., SANTOS, M. C., NUNES, M. L.; Avaliação das características físico-químicas e microbiológicas de torta de camarão durante a estocagem congelada. **XVI Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca – XVI CONBEP**, Natal-RN, out,2009.

SANTOS, M. C., CIRILO, A. T. O., NUNES, M. L.; Características físicas e químicas de biscoitos salgados suplementados com farinha de camarão “saborica”. **I Congresso do Instituto Nacional de Frutos Tropicais**, Aracaju-SE, abril, 2010.

SANTOS, M. C., CIRILO, A. T. O., NUNES, M. L.;Rendimento e Caracterização química da carne e da farinha de resíduos do camarão “saborica”. **I Congresso do Instituto Nacional de Frutos Tropicais**, Aracaju-SE, abril, 2010.

SANTOS, M. C., NUNES, M. L., CIRILO, A. T. O., OLIVEIRA, B. S.; XXII Avaliação do grau de desacetilação (gd) de quitosanas de camarão “saborica” e caranguejo. **XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Salvador- BA, nov, 2010.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
PUBLICAÇÕES	iv
SUMÁRIO	v
ÍNDICE DE TABELAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Camarão Saburica	3
2.2 Fontes de quitina e quitosana	4
2.3 Quitina: Obtenção, aspectos físicos e químicos	6
2.4 Quitosana	9
2.4.1 Aspectos físicos, químicos e obtenção	9
2.4.2 Grau de desacetilação	12
2.4.3 Aplicações da quitosana	13
2.5 Uso da quitosana como biofilme e agente antimicrobiano	15
2.6 Produtos minimamente processados	16
2.7 Uso de biofilmes na conservação de alimentos minimamente processados	19
2.8 Manga (<i>Mangifera indica</i> L)	21
3. METODOLOGIA	23
3.1 Matéria prima	23
3.2 Pré-tratamento da matéria-prima	23
3.3 Biometria dos camarões e cálculo de rendimento dos produtos	23
3.4 Obtenção da farinha do camarão “Saburica”	25
3.5 Obtenção de quitina e quitosana	25
3.5.1 Desmineralização	26

3.5.2 Desproteínização	26
3.5.3 Desodorização/Despigmentação	26
3.5.4 Secagem da quitina	26
3.5.5 Desacetilação da quitina	26
3.6 Análises físico-químicas	26
3.6.1 Análises físico-químicas	26
3.6.2 Determinação do grau de desacetilação da quitosana	27
3.7 Produção do biofilme de quitosana	27
3.8 Processamento mínimo das mangas e aplicação do biofilme	28
3.8.1 Análises físico-químicas	28
3.8.1.1 Determinação do teor de Sólidos Solúveis (SS)	28
3.8.1.2 Determinação da Acidez Titulável (AT)	29
3.8.1.3 Determinação do pH	29
3.8.1.4 Determinação de Ácido Ascórbico	30
3.8.1.5 Análise de cor	30
3.9 Análise Sensorial	30
3.10 Análise Microbiológica	30
3.11 Análise estatística	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	
4.1 Caracterização biométrica e físico-química do camarão e da farinha obtida	32
4.2 Caracterização das etapas do processo de obtenção da quitina	34
4.3 Caracterização da quitosana	35
4.3.1 Rendimento	35
4.4 Determinação do grau de desacetilação da quitosana	36
4.5 Análises físico-químicas das mangas revestidas com biofilme de quitosana	37
4.5.1 Análise sensorial	42
4.5.2 Análises microbiológicas	47
5 CONCLUSÕES	48
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1	Características da quitosana comercial	10
Tabela 2	Comprimento e peso médios do camarão “Saburica”	32
Tabela 3	Rendimento do camarão “Saburica” (carne, casca e cabeça) e da farinha do camarão	32
Tabela 4	Caracterização físico-química do camarão “Saburica” e da farinha obtida	33
Tabela 5	Variação dos componentes químicos em função das operações durante o processamento da quitina	35
Tabela 6	Resultado das análises de cinzas, pH e umidade da quitosana	35
Tabela 7	Rendimento do processo de obtenção de quitosana	36
Tabela 8	Valores médios de a, b e L das fatias de manga “Tommy”, revestidas com biofilme de diferentes concentrações de quitosana em temperatura de refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) durante 10 dias de armazenamento	38
Tabela 9	Características físico-químicas das fatias de manga “Tommy”, revestidas com diferentes concentrações de biofilme de quitosana, durante a estocagem refrigerada ($5 \pm 1^\circ\text{C}$)	40
Tabela 10	Aceitação média dos atributos aparência global, cor e brilho de fatias de mangas “Tommy”, revestidas com biofilme de diferentes concentrações de quitosana à temperatura de refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) no 20º dia de armazenamento	45
Tabela 11	Valores médios de bolores e leveduras das fatias de mangas “Tommy” revestidas com diferentes concentrações de biofilme de quitosana à temperatura de refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) durante 10 dias de armazenamento	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura da Quitina	6
Figura 2	Estrutura da celulose	7
Figura 3	Estruturas polimórficas da quitina	7
Figura 4	Fluxograma simplificado do processo de obtenção da quitina	9
Figura 5	Estrutura da quitosana	9
Figura 6	Fluxograma do processo de obtenção da quitosana	11
Figura 7	Esquema das aplicações da quitosana na indústria de alimentos	14
Figura 8	Camarão “Saburica”	23
Figura 9	Fluxograma do processo de obtenção de quitina a partir do camarão “Saburica”	24
Figura10	Fluxograma do processo de obtenção de quitosana a partir do camarão “Saburica”.	25
Figura11	Fluxograma do processamento mínimo das mangas com posterior aplicação do biofilme e estocagem refrigerada.	29
Figura12	Modelo da ficha utilizada na avaliação sensorial	31
Figura13	Quitina	34
Figura 14	Quitosana	34
Figura 15	Curva da titulação potenciométrica da quitosana	37
Figura 16	Perda da qualidade da aparência global das mangas revestidas com biofilme em função do tempo de armazenamento.	43
Figura 17	Perda da qualidade da cor das mangas revestidas com biofilme em função do tempo de armazenamento.	44
Figura 18	Perda da qualidade do brilho das mangas revestidas com biofilme em função do tempo de armazenamento.	45

Figura 19	Amostras no 1º dia de armazenamento: (a) Controle, (b) biofilme a 0,25% de quitosana, (c) biofilme a 0,5% de quitosana e (d) biofilme a 1,0% de quitosana.	46
Figura 20	Amostras no 5º dia de armazenamento: (a) Controle, (b) biofilme a 0,25% de quitosana, (c) biofilme a 0,5% de quitosana e (d) biofilme a 1,0% de quitosana.	46
Figura 21	Amostras no 10º dia de armazenamento: (a) Controle, (b) biofilme a 0,25% de quitosana, (c) biofilme a 0,5% de quitosana e (d) biofilme a 1,0% de quitosana.	46
Figura 22	Amostras no 15º dia de armazenamento: (a) Controle, (b) biofilme a 0,25% de quitosana, (c) biofilme a 0,5% de quitosana e (d) biofilme a 1,0% de quitosana.	46
Figura 23	Amostras no 20º dia de armazenamento: (a) Controle, (b) biofilme a 0,25% de quitosana, (c) biofilme a 0,5% de quitosana e (d) biofilme a 1,0% de quitosana.	46

1 INTRODUÇÃO

As mudanças nos padrões nutricionais e os benefícios creditados a uma alimentação saudável dinamizaram intensamente todos os setores responsáveis pela produção de alimentos levando à busca por alternativas de transformação, conservação e alteração química destes produtos.

Os objetivos da indústria alimentícia consistem, basicamente, em prolongar o período durante o qual o alimento permanece adequado para o consumo, aumentar a variedade da dieta, fornecer os nutrientes necessários para a manutenção da saúde e gerar lucros para os fabricantes (FELLOWS, 2006).

As necessidades de mudanças no processamento e a crescente exigência do consumidor por alimentos mais naturais, com uma vida útil prolongada, mantendo a qualidade nutritiva e sensorial impulsionam a pesquisa de novos ingredientes e de novas tecnologias.

Atualmente, uma preocupação da indústria pesqueira diz respeito ao destino adequado para seus resíduos, de modo que as agressões ao meio ambiente sejam cada vez mais reduzidas. Na medida em que a geração de resíduos de camarão, caranguejo e siri é bastante significativa e que tais resíduos são constituídos por quitina, proteínas, carbonato de cálcio e pigmentos, tem havido grande interesse em seu reaproveitamento, buscando alternativas ao seu aproveitamento final, com vistas ao desenvolvimento de produtos de valor agregado (CRAVEIRO, 1999; MOURA et al, 2006).

A quitina e quitosana são polímeros atóxicos, biodegradáveis, biocompatíveis e produzidos por fontes naturais renováveis, cujas propriedades vêm sendo exploradas em aplicações industriais e tecnológicas há quase setenta anos (GILDBERG *et al*, 2001 apud ASSIS *et al*, 2008). A quitina é um polímero linear natural, composto por unidade de 2-desoxi-2-acetoamido-D-glucopiranosose. É encontrada em carapaças de crustáceos (ABAZINGE *et al*, 1993 apud ASSIS *et al*, 2008), insetos e moluscos (CRAVEIRO et al, 1998), fungos e leveduras (FRANCO *et al*, 2005 apud ASSIS *et al*, 2008).

A literatura apresenta uma grande diversidade de fontes para produção de quitina e quitosana, as quais influenciam as diferentes propriedades destes polímeros e derivados, possibilitando o aumento do potencial biotecnológico, aplicações comerciais (RINAUDO, 2006; YEN et al, 2007) e como uma opção as emergentes ao segmento de alimentos funcionais (FAI *et al*, 2008). As principais propriedades deste polissacarídeo são: bioatividade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, reatividade do grupo amino

deacetilado, permeabilidade seletiva, ação polieletrólítica, habilidade de quelação, capacidade adsorviva e habilidade em formar gel e biofilme (THARANATHAN & KITTUR, 2003; SYNOWIECKI, KHATEEB, 2003 apud FAI *et al*, 2008).

Biofilmes são preparados de materiais biológicos, que agem como barreira a elementos externos e, conseqüentemente, podem proteger o produto e aumentar a sua vida de prateleira (TANADA-PALMU *et al*, 2002), controlando a perda de umidade, a troca de oxigênio, etileno e dióxido de carbono dos tecidos de frutas. Dessa forma, controla a respiração do produto e aumenta sua durabilidade, funcionando como uma alternativa ao tratamento por atmosfera controlada (AVENA-CUSTILLOS *et al*, 1993 apud ASSIS *et al*, 2008).

Dados recentes demonstram o sucesso da aplicação de filmes obtidos a partir de derivados de proteínas e lipídios como coberturas semipermeáveis revestindo frutas tropicais (TANADA-PALMU *et al*, 2002). Além das proteínas, os polissacarídeos têm sido avaliados como uma alternativa consideravelmente econômica e eficiente para esse fim, sendo a quitosana o carboidrato mais estudado (COMA *et al*, 2002 apud ASSIS *et al*, 2008). Deste modo, a avaliação da potencialidade de utilização da quitosana na indústria de alimentos, a partir de matérias-primas regionais e de baixo valor comercial na busca de alternativas ao desenvolvimento de produtos de valor agregado pode vir a representar uma grande contribuição ao segmento agroindustrial, ao meio ambiente e ao segmento nutrição/ saúde da população.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral:

Aproveitar o camarão “saborica”, *Macrobrachium jelskii*, na produção de biofilme de quitosana com posterior aplicação em mangas minimamente processadas.

1.1.2 Objetivos específicos:

- Avaliar o rendimento e as características químicas da quitosana obtida de resíduos de camarão “saborica”;
- Avaliar a concentração x eficiência do biofilme de quitosana na aplicação em mangas minimamente processadas, submetidos à estocagem refrigerada ($5\pm 1^{\circ}\text{C}$)

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Camarão Saburica

Os palaemonídeos são denominados, genericamente, como camarões de água doce, passando pelo menos uma fase de seu ciclo de vida em ambiente dulcícola (COELHO *et al.*, 1982 apud SILVEIRA, 2002). Os camarões de água doce se destacam por realizarem migração durante a época de reprodução, geralmente do rio para a foz. As fêmeas ovadas procuram água salobra para a eclosão das larvas, onde se desenvolvem, atingem a fase de pós-larva e retornam para os rios (BUENO, 1981 apud SILVEIRA, 2002). RODRIGUEZ (1981) apud SILVEIRA (2002) justificando a relação de dependência de algumas espécies com o ambiente estuarino, à necessidade da concentração de cloretos durante o seu desenvolvimento larval, classificando as espécies de camarões em litorâneas e continentais.

A família Palaemonidae está distribuída por todos os continentes, com seus representantes vivendo principalmente nas águas salobra e doce. De acordo com Melo (2003) esta família compreende duas subfamílias *Euryrhynchinae* (HOLTHUIS, 1950) e *Palaemoninae* (RAFINESQUE, 1815), sendo esta última, a mais significativa e composta por 5 gêneros: *cryphiops*, (DANA, 1852); *Pseudopalaemon* (SOLLAUD, 1915); *Palaemon* (WEBER, 1795); *Palaemonetes* (HELLER, (1869) e *Macrobrachium* (BATE, 1868). Os três últimos gêneros podem ser considerados como os mais representativos desta subfamília (CARVALHO *et al.*, 1979 apud SOARES, 2008).

No Brasil, são encontradas 18 espécies de *Macrobrachium*, algumas delas de importância econômica; outras, porém, são muito utilizadas como iscas em pescarias com anzol, alimento para a população ribeirinha além de compor uma parte importante na teia trófica de ambientes límnicos. Dentre estas se destaca *Macrobrachium jelskii* por também ser utilizada na ornamentação de aquários (SILVA, VIANA, 2009).

Apesar da importância do gênero *Macrobrachium*, nota-se a falta de informações sobre algumas espécies, nitidamente as de menor porte e com pouco interesse comercial, aliando-se a isto a menor abundância e menor área de distribuição de algumas espécies dificulta a obtenção de dados (BARROS e BRAUN, 1997).

Macrobrachium jelskii (MIERS, 1877) é conhecido somente nas bacias do Norte da América do Sul, do Rio Amazonas, do Nordeste e do Rio São Francisco. De acordo com Gomes-Corrêa (1977) a espécie foi considerada, durante muito tempo, como jovem de *M. amazonicum*, cabendo a Holthuis (1952) determinar a diferença e registrar a sua ocorrência

para o Brasil (BARROS e BRAUN, 1997). Contudo deve-se esclarecer que o *M. jelskii* já havia sido registrado e estudado por Paiva e Barreto (1960) em uma pequena bacia potamográfica no nordeste brasileiro. Fora do Brasil, a espécie é encontrada em Trinidad e Costa Rica (KENSLEY E WALKER, 1982 apud BARROS e BRAUN, 1997)

A espécie *Macrobrachium jelskii* (“camarão sossego”) está restrita ao ambiente de água doce e de acordo com Melo (2003 apud SOARES, 2008) é frequentemente encontrada em águas escuras com pouca vegetação marginal e em substrato lodoso, águas transparentes e rápidas, com gramíneas, pedras e areia. Segundo este mesmo autor, esta espécie alimenta-se de larvas de insetos, diatomáceas e outras algas, além de grãos do sedimento. Esta espécie, possui algumas peculiaridades como seu hábito alimentar noturno e em áreas de vegetação, devido a recursos abundantes (WILLINER e COLLINS, 2002 apud SOARES, 2008) e a capacidade de suportar condições de quase ausência de oxigênio dissolvido no meio em que se encontra (BASTOS e PAIVA, 1959, apud SOARES, 2008).

No Brasil a captura e comercialização de camarões do gênero *Macrobrachium* são práticas artesanais que resultam numa produção limitada, atendendo apenas as populações locais ou muito próximas. Para se determinar o tamanho ideal para a despesca e a produção de alimento de boa qualidade, torna-se necessário estabelecer o rendimento de uma espécie, que é definido por LOBÃO *et al* (1984, apud SILVEIRA, 2002) como a proporção do peso total do animal aproveitada para o consumo humano.

Embora *Macrobrachium jelskii* não seja um animal considerado viável economicamente para o cultivo, devido ao pequeno porte, esta espécie destaca-se por sua elevada abundância nos ambientes naturais, demonstrando certo grau de resistência em relação às outras espécies e pela frequência com que são vistos servindo como isca e alimentação humana. Estudos sobre a potencialidade de aproveitamento tecnológico vem sendo realizados por SANTOS *et al* (2010), CIRILO *et al*, (2010), SANTOS *et al*, (2010).

2.2 Fontes de quitina e quitosana

O Brasil possui grande potencial pesqueiro, em um litoral vasto e várias bacias hidrográficas, além de uma diversidade de fauna aquática. A produção de pescado no Brasil em termos de capturas desembarcadas pela pesca extrativa, aquíicultura marinha e continental, tem atingido níveis próximos a um milhão de toneladas anuais (FERRARI, 2005 apud MOURA *et al*, 2006).

Uma preocupação da indústria pesqueira atualmente diz respeito ao destino adequado para seus resíduos, de modo que as agressões ao meio ambiente sejam cada vez mais reduzidas. Na medida em que a geração de resíduos de camarão, caranguejo e siri é bastante significativa e que tais resíduos são constituídos por quitina, proteínas, carbonato de cálcio e pigmentos, tem havido grande interesse em seu reaproveitamento, buscando alternativas ao seu aproveitamento final, com vistas ao desenvolvimento de produtos de valor agregado (MOURA et al, 2006,).

A biomassa vem sendo vista com grande interesse pelos cientistas em função de ser uma fonte renovável de energia e fonte de matéria-prima industrial. A celulose, polissacarídeo produzido pela fotossíntese das plantas, compõe boa parte da biomassa. Em segundo lugar, encontra-se a quitina, um polissacarídeo encontrado em animais marinhos, insetos e fungos. A quitina é encontrada principalmente em exoesqueletos de crustáceos e nas paredes celulares de alguns fungos. A reutilização dessa substância química é muito importante do ponto de vista ambiental e econômico, pois elimina os resíduos da indústria pesqueira (MATHUR e NARANG, 1990 apud ANTONINO, 2007).

Atualmente, toda quitina produzida comercialmente é obtida a partir de carapaças de caranguejos e cascas de camarões, oriundos de resíduos da indústria de processamentos desses crustáceos enquanto alimentos (MATHUR e NARANG, 1990 apud ANTONINO, 2007). Nestes materiais, a quitina está associada com proteínas, materiais inorgânicos, pigmentos e lipídeos. Os exoesqueletos de crustáceos podem apresentar entre 15-20% de quitina, 25-40% de proteínas e 40- 55% de sais inorgânicos, principalmente carbonato de cálcio (MATHUR e NARANG, 1990 apud SANTOS, 2004) e dependendo do método, pode-se também recuperar a astaxantina, um carotenóide que é usado na indústria como corante (MATHUR e NARANG, 1990 apud ANTONINO, 2007).

A produção de quitosana de carapaças de crustáceos a partir de resíduos da indústria pesqueira é economicamente viável, especialmente se inclui a recuperação de carotenóides, pois apresentam considerável quantidade de astaxantina, um carotenóide que até agora não foi sintetizado e que é comercializado como aditivo alimentar na aquicultura, especialmente para salmão (KUMAR, 2000).

Várias companhias produzem quitina e quitosana em escala comercial, a maioria delas localizadas no Japão, onde mais de 100 bilhões de toneladas de quitosana é produzida anualmente a partir de exoesqueletos de caranguejos e camarões, uma quantidade que corresponde aproximadamente 90% da quitosana produzida no mundo (aproximadamente 4 trilhões de toneladas por ano). Somente a produção de crustáceos nos Estados Unidos

(150.000 t de camarão, 25.000 t de lagosta e 85.000 t de caranguejos) é capaz de fornecer matéria-prima para produção de aproximadamente 15.000t de quitina todo ano. No Brasil, não existe dados sobre a produção de carapaças como resíduo da indústria pesqueira (CRAVEIRO *et al.*, 1999). Entretanto sabe-se que somente a produção de camarão no Brasil atingiu 65.000 t em 2007 (ROCHA, 2007).

2.3 Quitina: Obtenção e aspectos físicos, químicos

A quitina, denominação usual para o polímero β -(1-4)2-acetamido-2-deoxi-D-glicose (N-acetilglicosamina), foi descoberta pelo professor francês Henri Braconnot, em 1811, recebendo a denominação inicial de fungina. Seu nome foi dado por Odier em 1823, quando ela foi isolada de insetos. O termo quitina é derivado do grego, da palavra *Chiton*, significando um revestimento protetor para invertebrados (SHAHIDI *et al*, 1999, apud HENNIG, 2009).

A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza depois da celulose, sendo que sua estrutura é constituída por uma seqüência linear de açúcares monoméricos possuindo assim estrutura semelhante à fibra vegetal denominada celulose. A diferença estrutural entre as duas fibras se deve aos grupos hidroxilas localizadas na posição 2, que na quitina foram substituídos por grupos acetamino (CRAVEIRO *et al.*, 1999). A estrutura da quitina e celulose podem ser observadas nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

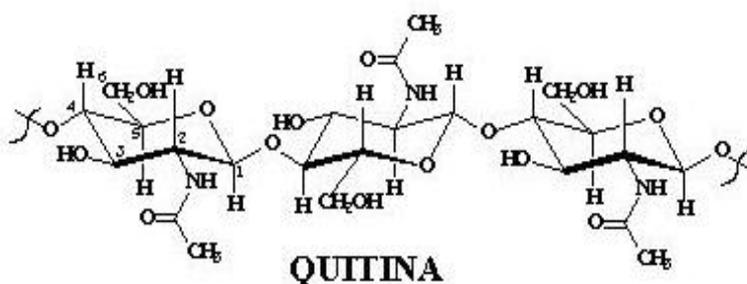


Figura 1: Estrutura da Quitina (CRAVEIRO *et al.*, 1999)

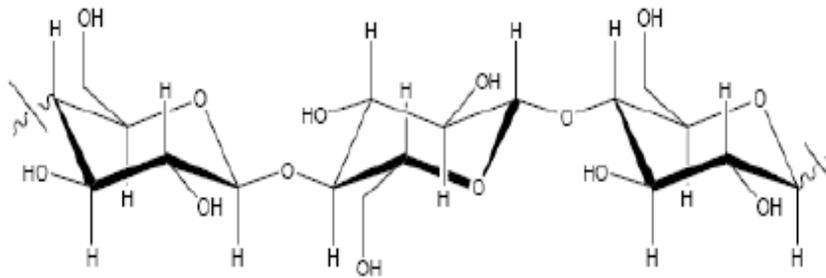


Figura 2: Estrutura da celulose (ANTONINO, 2007)

Uma das características da quitina é de ser um sólido cristalino ou amorfo, insolúvel em água, solventes orgânicos, ácidos diluídos e álcalis. Ela dissolve-se em ácidos minerais concentrados com simultânea degradação do biopolímero (FURLAN, 1993 apud HENNIG, 2009). A quitina é um material biodegradável, não-tóxico, insolúvel em água e em muitos solventes orgânicos. É despolimerizada na presença de ácidos minerais fortes, sendo parcialmente solúvel em solução de dimetilacetamida com 5% de cloreto de lítio (DMAc-LiCl) (ANTONINO, 2007).

Este biopolímero pode ser encontrado em três diferentes formas polimórficas, dependendo de sua estrutura cristalina, da disposição de suas cadeias e da presença de moléculas de água; sendo elas descritas como α -quitina, β -quitina e γ -quitina, porém, a forma polimérica natural mais abundante e mais estável é a α -quitina (Figura 3) (FURLAN, 1993 apud HENNIG, 2009).

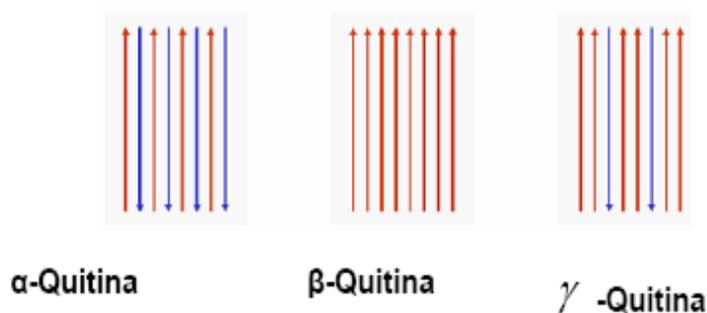


Figura 3: Estruturas polimórficas da quitina (ANTONINO, 2007)

As três estruturas polimórficas estão possivelmente relacionadas a diferentes funções no organismo. A forma α é encontrada onde é necessária uma extrema dureza (resistência), como em cutículas de artrópodes e frequentemente, é associada com proteínas ou materiais

inorgânicos ou com ambos. As formas β e γ são encontradas onde são necessárias flexibilidade e dureza. A forma dominante, α - quitina é mais estável que as forma β e γ , entretanto estas últimas, β e γ , podem ser convertidas à forma α por tratamentos adequados.

A quitina é, portanto, um copolímero natural encontrado nas carapaças e exoesqueletos de crustáceos, cutículas de muitos invertebrados, parede celular de fungos e algumas algas. Segundo Craveiro *et al.*(1999), a quitina constitui de 1,4% do peso de insetos, e 15 a 20% do peso de carapaças de crustáceos. O conteúdo de quitina nos crustáceos varia com a espécie estando o rendimento entre 2 a 12% da massa corpórea total, e de 13 a 42% na casca (SYNOWIECKI, AL- KHATEEB, 2003 apud STAMFORD, 2006). Este biopolímero apresenta grande variedade de usos, no tratamento de efluentes, nas indústrias têxtil, alimentícia e de cosméticos; porém, sua maior aplicação encontra-se na produção de quitosana (SHAHIDI *et al.*, 1999 apud HENNIG, 2009). Comercialmente, esses biopolímeros (quitina e quitosana) são obtidos a partir de resíduos de camarão (CARVALHO, 2006 apud HENNIG, 2009).

As principais fontes para a obtenção de quitina em laboratório são os exoesqueletos de vários crustáceos, como caranguejos e camarões. Segundo Synowiecki e Al-Khateeb (2003 apud STAMFORD, 2006), o teor de quitina presente na carapaça de crustáceos varia entre 3 a 42%, dependendo da espécie, do seu estado nutricional e do estágio do ciclo reprodutivo na qual a mesma se encontra. A quitina está fortemente associada com proteínas, material inorgânico, pigmentos e lipídios. Várias condições são usadas para remover essas impurezas e ainda não existe um processo padrão. Para isolar a quitina pode-se seguir as seguintes etapas:

- a) desproteínização;
- b) desmineralização;
- c) despigmentação;
- d) secagem.

Embora sejam conhecidos vários processos de obtenção de quitina, a maior parte deles não reproduz. O maior problema encontrado na extração da quitina é seu modo de preparação.

As etapas do processo de obtenção de quitina, segundo Weska *et al.* (2007 apud HENNIG, 2009) são: desmineralização, desproteínização, despigmentação e secagem. A desmineralização consiste na agitação dos resíduos com HCl (2,5% p/v), sendo este o mais utilizado, ou com outros ácidos como HNO₃, H₂SO₃, CH₃COOH e HCOOH, a desproteínização consiste na agitação dos resíduos com NaOH (5%), podendo ser utilizado um grande número de solventes, tais como soluções aquosas de Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH,

K_2CO_3 , $Ca(OH)_2$, Na_2SO_3 , $NaHSO_4$, $CaHSO_3$, Na_3PO_4 e Na_2S , sendo o $NaOH$, o mais utilizado, e a despigmentação consiste na agitação com hipoclorito de sódio na proporção de 1:7. Entre cada uma das etapas de obtenção são feitas sucessivas lavagens para a retirada dos reagentes. A Figura 4 apresenta um fluxograma simplificado do processo de obtenção da quitina a partir do exoesqueleto de camarão.

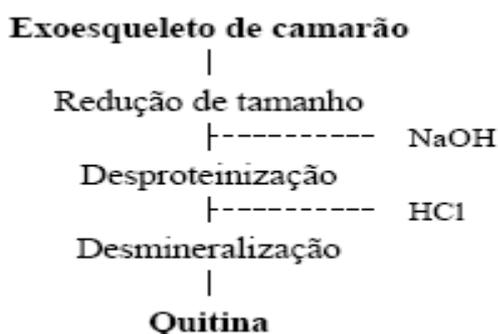


Figura 4. Fluxograma simplificado do processo de obtenção da quitina (KNORR, 1991 apud STREIT, 2004)

2.4 Quitosana:

2.4.1. Aspectos físicos, químicos e obtenção

A quitosana é um copolímero de (1-4)-L-amino-2-deoxi- β -D-glucona (Dglucosamina), forma desacetilada da quitina, que é um dos mais extensos polissacarídeos em biomassa, podendo ser obtida a partir de carapaças de crustáceos, como camarão, caranguejo e lagosta (SYNOWIECKI, KHATEEB, 2003 apud FAI *et al*, 2008). Oriunda do processo de desacetilação da quitina, a quitosana, é muito mais atrativa por conter um grupo amino, que propicia a modificação química da estrutura polimérica original (AIROLDI, 2008). A diferença entre a quitosana e a quitina é a eliminação do grupamento acetil ligado ao grupo acetamino na posição 2. O monômero de quitosana pode ser observado na Figura 5.

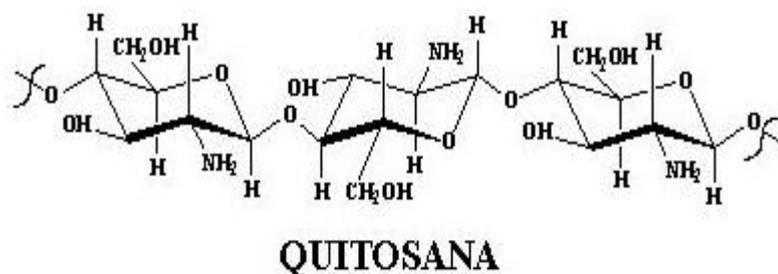


Figura 5: Estrutura da quitosana (CRAVEIRO *et al.*, 1999)

A cristalinidade da quitina e quitosana, conforme avaliado através de estudos de raios-X, depende do grau de acetilação e do processo pelo qual o polissacarídeo foi obtido. Já a estrutura espacial está relacionada à forma na qual a quitosana se encontra no estado sólido, ou seja, depende de como se encontra a substância, na forma hidratada, anidra, como complexos ou sais de quitosana (ANTONINO, 2007).

Este biopolímero é insolúvel em água, álcalis, álcool e acetona, porém, sua solubilidade é completa quando adicionada a ácidos orgânicos abaixo de pH 6,0, como ácido acético, fórmico e cítrico (CRAVEIRO *et al.*, 1999).

O processo de obtenção da quitosana consiste na desacetilação parcial da quitina, a qual é extraída da carapaça de crustáceos, lagostas, camarões, caranguejos e siris. Durante esta reação, os grupamentos acetamido (-NHCOCH₃) da quitina são transformados, em graus variados, em grupos amino (-NH₂), dando origem à quitosana. Portanto, quitosana é o nome atribuído genericamente ao polímero onde o número de unidades monoméricas contendo o grupamento NH₂ é suficiente para tornar o polímero solúvel em ácidos fracos (SILVA, 2000; THARANATHAN e KITTUR, 2003 apud STREIT, 2004). A Figura 6 apresenta um fluxograma do processo de obtenção da quitosana.

A Tabela 1 apresenta as características da quitosana comercial.

Tabela 1: Características de quitosanas comerciais

Quitosana	Especificações (*)	Especificações (**)
Conteúdo de umidade	< 10,0%	8,9%
Conteúdo de cinzas	< 1,0%	1,01
Desacetilação	> 85,0%; > 90,0%; 95,0%	93,74%
pH	6-7	9

Fonte: (*)UNIVERSAL NUTRITON, EUA, 2005 apud HENNIG, 2009.

(**) Especificação de quitosana comercial (Empresa Brasileira)

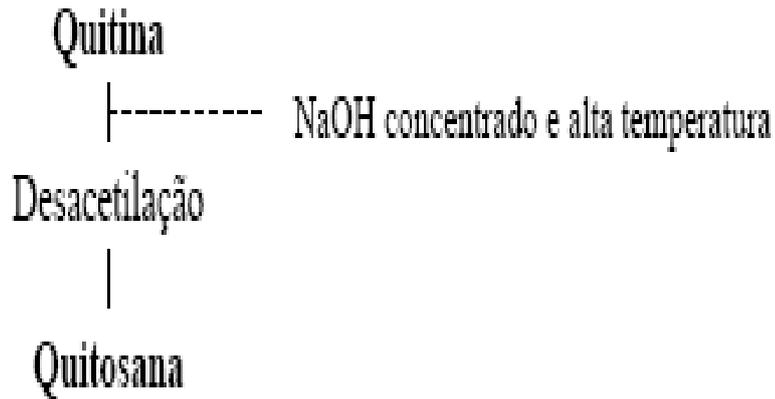


Figura 6: Fluxograma do processo de obtenção da quitosana (KNORR, 1991 apud STREIT, 2004)

Além da desacetilação alcalina a quitina também pode ser convertida em quitosana por meios enzimáticos, sendo o primeiro método o mais utilizado. Embora a hidrólise alcalina dos grupos acetoamido presentes na quitina, que leva à obtenção de quitosana, seja uma reação relativamente simples, esta não ocorre de maneira homogênea e completa ao longo de todas as cadeias (CAMPANA-FILHO, 2007). Durante o curso da desacetilação alcalina, parte das ligações N-acetil do biopolímero são rompidas com a formação de unidades de D-glicosamina que contém um grupo amínico livre. Entretanto, a quitosana não apresenta uma entidade química uniforme, mas um grupo de biopolímeros parcialmente desacetilados, dos quais, os que apresentam grau de desacetilação superior a 50%, são considerados quitosana, sendo que as aplicações e características dependem do grau de desacetilação e do tamanho da cadeia do biopolímero (CRAVEIRO *et al.*, 1999). As variações nos métodos de preparação da quitosana resultam em diferenças no seu grau de desacetilação. A quitosana comercial possui, geralmente, grau de desacetilação variando de 70 a 95% (REGE *et al.*, 2003). Segundo Weska *et al.* (2007 apud HENNIG, 2009) a etapa de desacetilação da quitina para produção de quitosana envolve a agitação da quitina seca com uma solução de NaOH (42,1% p/v) à temperatura de 130°C, por uma hora e meia. Outros autores (MEYERS, 1997; BROUSSIGNAC, 1968; PETER, 1995) sugerem temperaturas de 110-150°C. MONTEIRO, NUNES (1995) e OLIVEIRA (2010) utilizaram temperaturas próximas a 100°C, por 1:30h aproximadamente. A partir da hidrólise drástica obtém-se então, a quitosana úmida. Esta é seca até atingir umidade comercial (< 10% de base úmida).

Segundo Roberts, (1992 apud HENNIG, 2009) a quitosana obtida é passada por um processo de purificação para eliminação de partículas sólidas e possíveis impurezas. De acordo com Rege *et al.* (2003), as etapas de purificação consistem em primeiramente a

preparação de um sal de quitosana, com ácido acético (1% v/v). A solução é filtrada para a retirada de impurezas. A quitosana é precipitada com NaOH (10% p/v) e após neutralizada até pH 7,5. A separação é feita por centrifugação, obtendo-se assim, a quitosana purificada úmida.

Atualmente, tanto a quitina como a quitosana são produzidas comercialmente na Índia, Japão, Polônia, Noruega, Austrália e Estados Unidos (KUMAR, 2000). O preço mundial da quitosana fica em torno de US\$ 7,5/10g (Sigma Aldrich). Embora o preço da quitosana ainda seja elevado, a sua produção tem aumentado nos últimos anos, principalmente em função do aumento de sua utilização em diferentes campos de aplicação, como indústrias de alimentos, farmacêutica e têxtil (BRUM, 1988 apud STREIT, 2004).

No Brasil, duas empresas de pequeno porte produzem quitosana de grau alimentício com o apoio de centros de pesquisas vinculadas à Universidades Federais, que são: Phytomare, localizada em Santa Catarina e a Polymar, localizada no Ceará (CRAVEIRO *et al.*, 1999). O Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) da Universidade Federal do Ceará possui uma patente da quitosana, comercializando-a de forma pulverizada e encapsulada como fonte de fibra natural solúvel, indicado para a perda de peso e redução de colesterol.

2.4.2 Grau de desacetilação

O grau de desacetilação (\overline{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 110-150⁰C (MEYERS, 1997; BROUSSIGNAC, 1968; PETER, 1995).

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 (KUMAR, 2000).

A caracterização de uma amostra de quitosana requer a determinação do seu grau de desacetilação. A literatura descreve vários métodos para a avaliação do conteúdo dos grupos amínicos livres na quitosana. Além da titulação potenciométrica, têm sido propostas, como o IR (BRUGNEROTTO *et al.*, 2001 apud RINAUDO, 2006), análises elementares, reações enzimáticas (PELLETIER *et al.*, 1990 apud RINAUDO, 2006). Muzzarelli (1997 apud KUMAR, 2000), 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 e que tempos prolongados ou altas temperaturas aumentam a porcentagem de desacetilação e reduzem o tamanho da molécula.

2.4.3 Aplicações da quitosana

Devido às suas características, a quitosana tem sido utilizada em diversas áreas, sendo utilizada tanto na área médica e farmacêutica como também na agricultura, biologia e nas indústrias têxtil e alimentícia.

A quitosana tem recebido muita atenção nas últimas décadas por suas propriedades especiais como baixa toxicidade, ser biodegradável, biocompatível, biofuncional, apresentarem propriedades de absorção, habilidade em formar filmes e propriedades para formação de bioadesivos, considerando o baixo custo tecnológico de obtenção e que apresenta abundantes recursos de matéria-prima disponíveis (NISHIMURA *et al*, 1991; CHATELET *et al*, 2001 apud JÚNIOR, 2009).

Desde então, a quitosana vem sendo extensivamente estudada devido às suas propriedades peculiares que lhe conferem um aproveitamento bastante versátil, tais como: em alimentos (SHAHIDI, SYNOWIECKI, 1991 apud KIM, RAJAPAKSE, 2005), fotografia (MUZZARELLI, 1997 apud KUMAR, 2000), carreador de fármacos de liberação controlada e DNA (MITRA *et al*, 2001; KATO *et al*, 2004; KIM *et al*, 2004; PARK *et al*, 2005), regeneração de tecidos epiteliais (KARIMAN, 2007; LI *et al*, 2007; NIEKRASZEWICZ, 2007 apud FAI *et al*, 2008), confecção de membranas artificiais (FAI *et al*, 2008), promotor de osteogênese (MUZZARELLI, MUZZARELLI 2002; MARTINO *et al*, 2005), antimicrobiano (ZHENG e ZHU, 2003), coadjuvante da higiene oral (SANO *et al*, 2003 apud FAI *et al*, 2008), absorção de gordura e redução do colesterol sérico (KIM, RAJAPAKSE, 2005), componente de cosméticos (KUMAR, 2000), remoção e recuperação de diferentes resíduos (VIVEK, TORRES, 2000 apud FAI *et al*, 2008), biotransformação e detecção de pesticidas (YOSHIZUKA *et al*, 2007), recobrimento de sementes na agricultura (VELÁSQUEZ, 2003 apud FAI *et al*, 2008), remoção de corantes, amino ácidos e proteínas (CRAVEIRO *et al*, 1999) e como agente floculante no tratamento de efluentes aquosos (DÍAS *et al*, 2007 apud FAI *et al*, 2008; KIM, RAJAPAKSE, 2005).

As possibilidades de aplicações são ainda enriquecidas pelo fato da quitosana poder ser preparada em diferentes formas, tais como soluções de viscosidade controlada, géis, filmes

e membranas, microesferas e nanopartículas (FAI *et al*, 2008). Na indústria alimentícia, a quitosana oferece um amplo espectro de possíveis aplicações (KUMAR, 2000), conforme esquematizado na Figura 7.

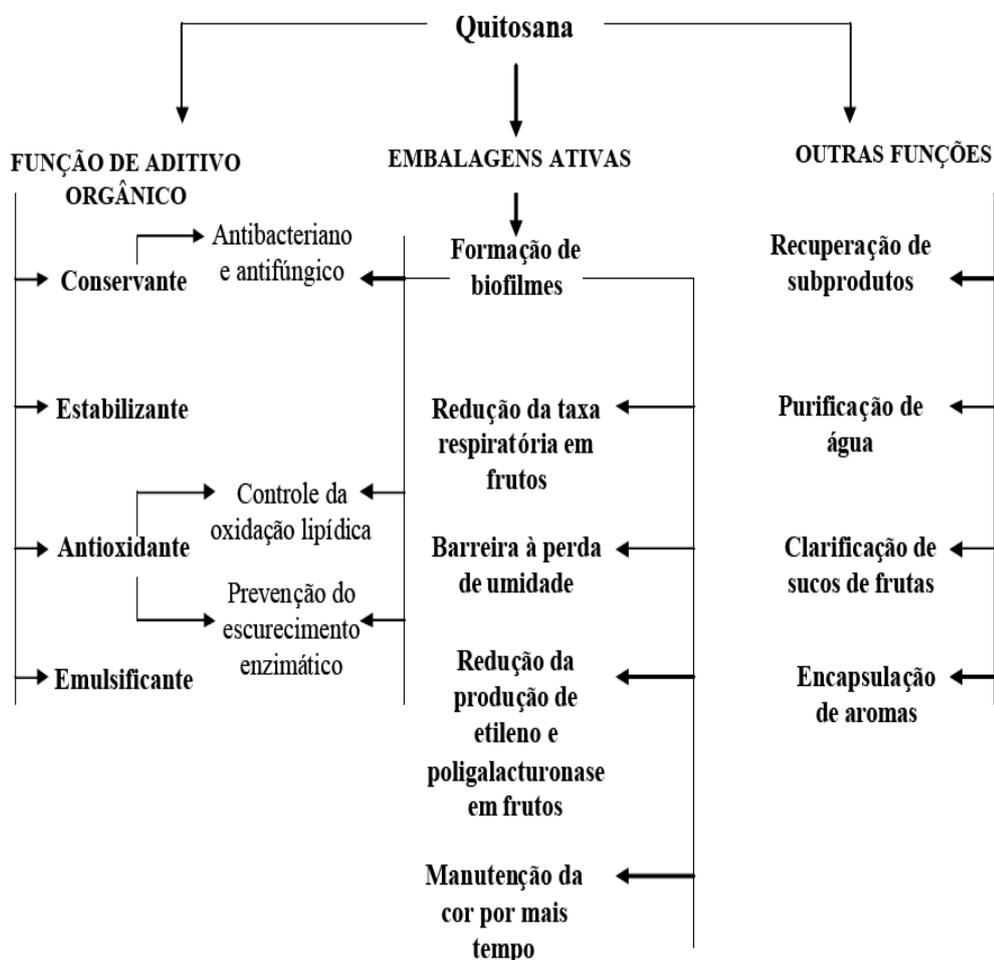


Figura 7. Esquema das aplicações da quitosana na indústria de alimentos
 Fonte: FAI et al (2008)

A quitosana vem sendo utilizada na indústria de alimentos nos Estados Unidos, Alemanha e Japão, sendo reportado neste último, como agente conservante em: macarrão, molho de soja, sardinha, entre outros; contudo, dados quanto às condições de processamento/formulação, todavia são escassas (ROLLER, COVILL, 1999). A quitosana também é usada como agente clarificante em sucos de maçã ((BOGUSLAWSKI et al.,1990 apud DEVLIEGHERE et al, 2004), antioxidantes em salsichas (XIE et al., 2001 apud DEVLIEGHERE et al, 2004) e inibidor de escurecimento enzimático em sucos de pêra

(SAPERS, 1992 apud DEVLIEGHIERE et al, 2004) e batatas (DÖRNENBURG AND KNORR, 1997 apud DEVLIEGHIERE et al, 2004).

2.5 Uso da quitosana como biofilme e agente antimicrobiano

Devido à sua capacidade de formar um recobrimento semipermeável, a quitosana prolonga a vida pós-colheita dos frutos tratados, minimizando a taxa de respiração e reduzindo a perda d'água (BAUTISTA-BAÑOS *et al*, 2006 apud FAI *et al*, 2008). O revestimento com quitosana pode manter a qualidade dos frutos e prolongar a vida de armazenamento, além de ser um revestimento comestível. Estes revestimentos devem apresentar certas peculiaridades como serem invisíveis, terem aderência suficiente para não serem facilmente removidos no manuseio e não introduzirem alterações no sabor (ASSIS, LEONI, 2003).

Como a quitosana constitui-se de fibras não digeríveis, não apresenta, portanto, valor calórico, independentemente da quantidade ingerida, o que é mais um atrativo para indústria alimentar.

A quitosana possui a propriedade de inibir o crescimento micelial de amplo espectro de fungos fitopatogênicos. É um polissacarídeo natural, derivado da quitina (extraído da carapaça de crustáceos), e completamente inócuo. Por esses motivos pode ser um substituto ideal dos atuais produtos fitossanitários, altamente nocivos ao meio ambiente e à saúde. Com o intuito de evitar ou retardar a deterioração microbiana de alimentos, a quitosana e seus derivados vêm sendo amplamente pesquisados como agentes antimicrobianos, e nos últimos anos têm recebido uma atenção especial, graças aos resultados promissores neste âmbito de aplicação (QIUPING, WENSHUI, 2007).

Pesquisas têm demonstrado que a quitosana apresenta ser eficiente como antimicrobiano contra vários microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (ZHENG, ZHU, 2003), *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus faecalis* (ROLLER, COVILL, 1999), *Salmonella entérica*, *S. paratyphi*, *Pseudomonas aeruginosa* (YADAV, BHISE, 2004 apud FAI *et al*, 2008), *Listeria monocytogenes* (COMA *et al*, 2002 apud FAI *et al*, 2008), *Bacillus cereus*, *Shigella dysenteriae*, *Aeromonas hydrophila*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Helminthosporium* (FAI *et al*, 2008), *Sacharomyces cerevisiae*, *S. ludwigii*, *Zygosaccharomyces baillii*, *Cryptococcus albidus*, *Candida sp.*, *Rhodotorula sp.* (RHOADES, ROLLER, 2000; SAGOO et al, 2002 apud FAI *et al*, 2008).

As diferentes características do produto comercial tornam-se um dos aspectos que têm dificultado seu pleno uso na indústria alimentícia. As quitosanas disponíveis, principalmente no Brasil, são de procedências diversas e apresentam diferentes graus de pureza e densidade molar, além de não seguirem industrialmente um procedimento comum de desacetilação, o que torna os materiais comerciais consideravelmente diferentes entre si. Este fato dificulta o estabelecimento de um processamento padrão de géis e a obtenção de filmes e revestimentos com características reprodutíveis (ASSIS, ALVES apud ASSIS, LEONI, 2003).

Outro aspecto importante é que as quitosanas comerciais são solúveis somente em pHs ácidos. A parcial solubilidade da quitosana em soluções aquosas deve-se aos grupos amino, que são bases fracas protonadas quando em pH menor que o $pK_a \sim 6,5$, auxiliando na solubilidade do biopolímero somente em soluções diluídas. Entretanto, a baixa solubilidade da quitosana quando em $pH > 6,5$ é uma das desvantagens da aplicação desse material, por isso, a preparação de derivados de quitosana tem sido prevista para superar estes limites de solubilidade em meio aquoso (CAMPANA FILHO, ABREU, 2005 apud JÚNIOR, 2009). Alterações na sequência de desacetilação ou mudanças estruturais introduzidas na cadeia da quitosana já processada, como o derivado N-carboximetilquitosana, podem gerar produtos solúveis em pH neutro. De um modo geral, contudo, a quitosana tem sido internacionalmente aceita como material promissor para revestimento de frutas e de alimentos diversos (ASSIS, LEONI, 2003).

2.6 Produtos minimamente processados

A demanda por dietas saudáveis, com alimentos frescos, principalmente frutas e hortaliças minimamente processados, resultou em um aumento na quantidade e variedade de produtos disponíveis para o consumidor. Entretanto, o sucesso e a continuidade da expansão do mercado, de produtos minimamente processados, dependerão da manutenção da qualidade dos produtos ofertados. A característica *in natura* desses produtos, associada às técnicas de processamento brandas e às condições de estocagem, criam um novo ecossistema onde microrganismos patogênicos e deterioradores podem crescer (VANNETI, 2005).

Os produtos minimamente processados são mais perecíveis do que os *in natura* (BRACKETT, 1987 apud VANNETI, 2005), devido aos danos nos tecidos, causados devido a manipulação e cortes. O processamento mínimo pode também diminuir a qualidade e o tempo de vida útil do produto, por acelerar mudanças degradativas durante a senescência (WILEY,

1994). Além disso, o manuseio favorece a contaminação por microrganismos, e a liberação de exudado celular disponibiliza nutrientes para a atividade microbiana. Portanto, a segurança microbiológica de produtos minimamente processados precisa ser garantida em adição à manutenção da qualidade sensorial e nutricional.

O período de validade do produto minimamente processado é dependente de vários aspectos, entre eles, a atividade da microbiota contaminante e a condição morfológica e fisiológica do tecido vegetal. Várias estratégias e tratamentos têm sido avaliados para promover o aumento da vida de prateleira de produtos minimamente processados. Dentre esses processos, os que resultam na eliminação de alguns microrganismos, na inibição ou no retardamento do crescimento de outros são, principalmente, lavagem, sanificação, atmosferas modificadas, irradiações e o uso de bioconservantes. Bactérias patogênicas, como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*; vírus como os da hepatite A e Norwalk; e parasitas, como *Giardia lamblia*, *Cyclospora cayetanensis* e *Cryptosporidium parvum*, são de grande importância para a saúde pública e estão relacionados com surtos de infecção alimentar em razão do consumo em frutas e hortaliças frescas e minimamente processadas contaminadas (BEUCHAT, 2002). O uso de temperatura baixa pode constituir um importante fator para retardar a deterioração de produtos minimamente processados, no entanto, não é um processo seguro para impedir o crescimento de alguns desses agentes. Patógenos psicrotóxicos, que são aqueles capazes de crescer bem sob condições de refrigeração, são de particular importância e entre esses se destacam *L. monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Aeromonas hydrophila*. Mesmo que não cresçam nas condições de estocagem do produto refrigerado, os demais patógenos podem sobreviver e, quando ingeridos, podem causar danos à saúde do consumidor.

Para a realização do processamento, tanto o ambiente como os utensílios, equipamentos, embalagens e matéria-prima devem ser sanitizados com 200 ppm de cloroativo, antes do processamento; por isso, é importante que sejam compostos por material lavável. Os operadores devem usar máscaras, luvas, toucas e aventais, de preferência descartáveis; devem ter unhas curtas e limpas, barba ou bigode bem aparados e limpos; retirar quaisquer acessórios como brincos, anéis, pulseiras, colares, etc.

A lavagem em água é a primeira operação a que as frutas e hortaliças minimamente processadas são submetidas durante o processamento, quando são removidos resíduos de solo e fragmentos do vegetal. No entanto, esse procedimento tem efeito limitado sobre a microbiota contaminante (NGUYEN-THE, CARLIN, 1994 apud VANNETI, 2005). A lavagem pode consistir em uma simples aspersão com água potável ou na imersão em água

fria, de 2 a 5 °C. Entretanto, se a água utilizada para lavagem for reciclada, pode facilitar a disseminação de contaminantes sobre o alimento, aumentando o potencial de deterioração.

A redução significativa da população microbiana do produto pode ocorrer durante a etapa de sanitização, onde se adotam tratamentos com substâncias químicas antimicrobianas. No entanto, a eficiência de um antimicrobiano depende de fatores ambientais, que podem agir isoladamente ou em combinação, tais como pH, atividade de água, temperatura, atmosfera e carga microbiana inicial (WILEY, 1994). O cloro, nas suas várias formas, é o sanitizante mais usado em alimentos e é germicida de amplo espectro de ação, que reage com as proteínas da membrana de células microbianas, formando compostos N-cloro, interferindo no transporte de nutrientes e promovendo a perda de componentes celulares. Concentrações de 50 a 200 ppm de cloro livre são necessárias para inativar células vegetativas de bactérias e fungos (SIMONS, SANGUANSRI, 1997 apud VANNETI, 2005), mas a concentração deve ser determinada para cada produto.

A utilização de temperaturas baixas durante o transporte, armazenamento e distribuição dos produtos minimamente processados diminui a velocidade de senescência e outros processos metabólicos, reduz a deterioração e pode minimizar os efeitos do etileno (BRECHT, 1995 apud VANNETI, 2005). O principal problema associado com frutas e hortaliças minimamente processadas é a possibilidade de abuso de temperatura após a embalagem e durante a distribuição, transporte, armazenamento, comercialização ou, antes de, serem consumidas. Quando esse fato ocorre, há um potencial para uma proliferação rápida de organismos mesofílicos, resultando na deterioração precoce com conseqüente redução da vida de prateleira do produto (MANDVELL, ACKLAND, 1986). A proliferação microbiana é dependente da temperatura e, patógenos como *L. monocytogenes*, mesófilos aeróbios e bactérias do ácido láctico apresentam taxa de crescimento pronunciada a 12°C (THOMAS, O'BEIRNE, 2000), uma condição que ocorre freqüentemente em abuso de temperatura.

Além da refrigeração, a atmosfera modificada é amplamente utilizada para a conservação das hortaliças minimamente processadas, por alterar as proporções relativas dos gases atmosféricos que envolvem o alimento (FARBER, 1991 apud VANNETI, 2005). O sucesso da embalagem sob atmosfera modificada depende de muitos fatores, incluindo a qualidade inicial do produto, a higiene dos manipuladores, a seleção correta do material de embalagem, uma mistura de gases apropriada para o produto, a confiabilidade do equipamento de embalagem e, principalmente, o controle da temperatura (FARBER, 1991 apud VANNETI, 2005). A concentração baixa de oxigênio estabiliza a qualidade do produto, reduzindo a atividade metabólica e o crescimento de microrganismos deterioradores aeróbios

(AHVENAIEN, 1996). Diferentes microrganismos variam muito em sua sensibilidade à pressão parcial de oxigênio e ao dióxido de carbono (CO₂) que é solúvel tanto em água quanto em lipídio. O CO₂ também é o principal responsável pelo efeito bacteriostático observado em atmosfera modificada, além de inibir também, a respiração do produto (FARBER, 1991 apud VANNETI, 2005).

2.6 Uso de biofilmes na conservação de alimentos minimamente processados

Considerável interesse tem sido demonstrado no desenvolvimento e caracterização de biofilmes devido ao potencial de aplicação destes produtos nos setores alimentício, agrícola e também pela questão da biodegradabilidade. Os biofilmes podem ser utilizados para controlar a migração de água de um sistema alimentício, a permeabilidade ao oxigênio, ao dióxido de carbono, eventualmente a migração lipídica e, ainda, podem conter antioxidantes, antimicrobianos e aditivos, os quais visam retardar a taxa de deterioração quando utilizados no envolvimento de um produto alimentício (MCHUGH, KROCHTA, 1994 apud BATISTA *et al*, 2005; CHEN, NUSSINOVITCH, 2000).

O uso de revestimentos e coberturas em frutas e vegetais com o objetivo de aumentar seu período de preservação não consistem em prática recente. No entanto, as coberturas denominadas “comestíveis” como hoje conhecemos datam das décadas finais do século passado. Este renovado interesse deve-se à demanda dos consumidores por alimentos de alta qualidade, preocupações ambientais em relação ao acúmulo de embalagens não biodegradáveis e a oportunidade de se criar alternativas de mercado para a produção de filmes de fontes renováveis (BOTREL *et al*, 2007).

As coberturas comestíveis têm o potencial de melhorar a qualidade e aumentar a vida-de-prateleira de produtos levemente processados (CHIEN *et al*, 2007). A quitosana tem sido utilizada com sucesso no revestimento de alimentos devido às propriedades de formar filmes (CHIEN *et al*, 2007) e por se destacar pela capacidade de controlar a respiração do fruto e apresentar alto potencial antimicrobiano, além de prevenir o escurecimento enzimático, ressaltando-se que esta é biodegradável o que a torna “ambientalmente correta” (ASSIS, LEONI, 2003; FAI *et al*, 2008; CHIEN *et al*, 2007).

Neste âmbito de aplicação pode-se considerar, na realidade, os biofilmes a base de quitosana como embalagens ativas, apresenta vantagem sobre a convencional, pois, além de atuarem como uma barreira a agentes externos, apresentam uma série de funções desejáveis à

manutenção da qualidade do vegetal ou fruto revestido, dentre as quais propriedades como agente antimicrobiano e antioxidante e assim atende a atual demanda por alimentos minimamente processados e livres da incorporação de conservantes químicos (OLIVEIRA, OLIVEIRA, 2004 apud FAI, 2008).

Chien *et al.*, (2007) estudaram o efeito do biofilme de quitosana na qualidade e vida-de-prateleira de mangas fatiadas e verificaram que houve um aumento nos teores de sólidos solúveis, acidez titulável e vitamina C durante 7 dias de armazenamento refrigerado.

Botrel *et al.*(2007) desenvolveram um revestimento antimicrobiano para alho minimamente processado constituído de amido de mandioca adicionado de quitosana, constatando que este foi viável para reduzir significativamente a microbiota presente durante 20 dias de estocagem. Qiuping, Wenshui (2007) pesquisando novas técnicas de preservação e manutenção da qualidade de cerejas da Índia (*Ziziphus mauritina*, cv. *Cuimi*), à temperatura ambiente, constataram que o uso de biofilme combinando quitosana e 1-metilciclopropeno foi eficaz para incrementar a vida útil deste fruto em oito dias e também observaram diminuição da sua taxa respiratória e de produção de etileno e poligalacturonase, pelas cerejas, observando também maior conservação da coloração verde e níveis mais altos de ácido ascórbico e sólidos solúveis totais.

Chien *et al* (2007) reportaram a eficiência do biofilme de quitosana para retardar o escurecimento, a deterioração e a perda de água em pitayas vermelhas (*Hylocereus undatus*) fatiadas, mantendo o conteúdo de sólidos solúveis totais, acidez titulável e ácido ascórbico. Verificaram, ainda, que este revestimento não influenciou na qualidade sensorial das pitayas vermelhas, sugerindo assim, o uso de coberturas de quitosana para preservar frutos minimamente processados de forma geral.

A utilização do biofilme de quitosana pode ampliar a vida de prateleira das frutas, promovendo uma atmosfera modificada. Esse tratamento modifica o ar circulante e interno das frutas, reduzindo os níveis de O₂ e aumentando os níveis de CO₂, conseqüentemente, reduzem o metabolismo do vegetal, retardando a senescência (LANA, FINGER, 2000 apud ASSIS *et al*, 2008).

2.7 Manga (*Mangifera indica* L)

A manga (*Mangifera indica* L.) é um fruto tipicamente tropical, em franca expansão em nível mundial (SILVA, MENEZES, 2001). Originária do sudeste asiático, foi introduzida no Brasil no século XVI, dando origem, por sementes, a diversas variedades cultivadas, as quais representavam até a década de 60 a mangicultura brasileira (CARVALHO et al, 2004 apud GUEDES, 2007).

As primeiras variedades cultivadas foram ‘Bourbon’, ‘Rosa’, ‘Espada’, ‘Augusta’ e ‘Carlota’ (SUGAI, 2002 apud GUEDES, 2007), sendo as principais variedades cultivadas no Brasil em áreas comerciais: Tommy Atkins, a principal, Haden, Keitt, Van Dyke e Rosa (SÃO JOSÉ, 1996 apud GUEDES, 2007). No Brasil, os principais Estados produtores são Minas Gerais, São Paulo, Paraíba, Piauí, Ceará, Pernambuco e Bahia, com crescimento significativo na área cultivada e na produtividade.

No mercado interno, o consumo de fruta fresca e do suco de manga também tem se expandido, justificando o crescimento de sua produção, que é um dos maiores dentre as frutíferas. Das cultivares de importância comercial, Tommy Atkins é a mais cultivada e exportada no país por ter boa produtividade, boa capacidade de adaptação a diferentes ambientes de cultivo, maior tolerância a doenças, além de apresentar frutos com qualidade razoável e boa conservação pós-colheita (CARVALHO et al, 2004 apud GUEDES, 2007). A comercialização desta manga no mercado brasileiro representa 79% da área plantada e o bom rendimento físico e boa resistência ao transporte a longas distâncias são os principais atributos a seu favor. É uma variedade bastante produtiva, daí ser eleita pelos produtores para seus plantios, apresenta ausência de fibras e é pobre no atributo sabor se comparada com outras variedades (MACEDO, 2001 apud MARTIN, 2006).

A variedade Tommy Atkins apresenta frutos com aproximadamente 12 cm de comprimento, 10 cm de largura, 9 cm de espessura e pesando de 400 a 700 g. A sua forma é oval-oblonga, de ápice arredondado, com pedúnculo inserido na região central. A casca é grossa, lisa, de cor amarelo-alaranjada, com manchas que podem ser vermelho-claro ou escuro. É resistente ao transporte e armazenamento. Durante estágio de maturação “de vez”, o fruto apresenta coloração arroxeadopúrpura e quando maduro, vermelho-amarelo-brilhante. A polpa de cor amarelo-escuro, de textura firme e consistente, com fibras finas e abundantes, corresponde a 80% do peso do fruto e tem 15% de sólidos solúveis (SANTOS, 2003 apud MARTIN, 2006).

Mangas maduras são pouco convenientes e requerem preparos especiais para o consumo, como a retirada da casca, separação da semente e fatiamento da polpa. Uma das maneiras de se aumentar as possibilidades de comercialização desta fruta é aumentar-lhe a conveniência durante o período de permanência no mercado, sem alteração na qualidade, através do processamento mínimo e do uso de biofilmes como o sugerido no presente trabalho.

3 METODOLOGIA

3.1 Matéria prima

A matéria prima utilizada para produção da quitina e quitosana foi o camarão “Saburica” (*Macrobrachium jelskii*) in natura adquirido no Mercado de Aracaju-SE.



Figura 8 - Camarão “Saburica”

3.2 Pré-tratamento da matéria-prima

Os camarões passaram por um pré-tratamento, no Laboratório de Produtos de Origem Animal, no Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA/UFS), onde foi feita uma lavagem, em água corrente, tendo como objetivo a separação do material grosseiro, dentre eles, material vegetal e porções de tecido.

3.3 Biometria dos camarões e cálculo de rendimento dos produtos

Foi efetuado cálculo de rendimento da casca, carne e cabeça em relação ao camarão inteiro, como também da farinha obtida. Os camarões foram medidos com auxílio de paquímetro digital e pesados em balança analítica. A partir da massa inicial da farinha, foi calculado o rendimento da quitina e quitosana.

As Figuras 9 e 10 mostram os fluxogramas do processo de obtenção da quitina e quitosana.

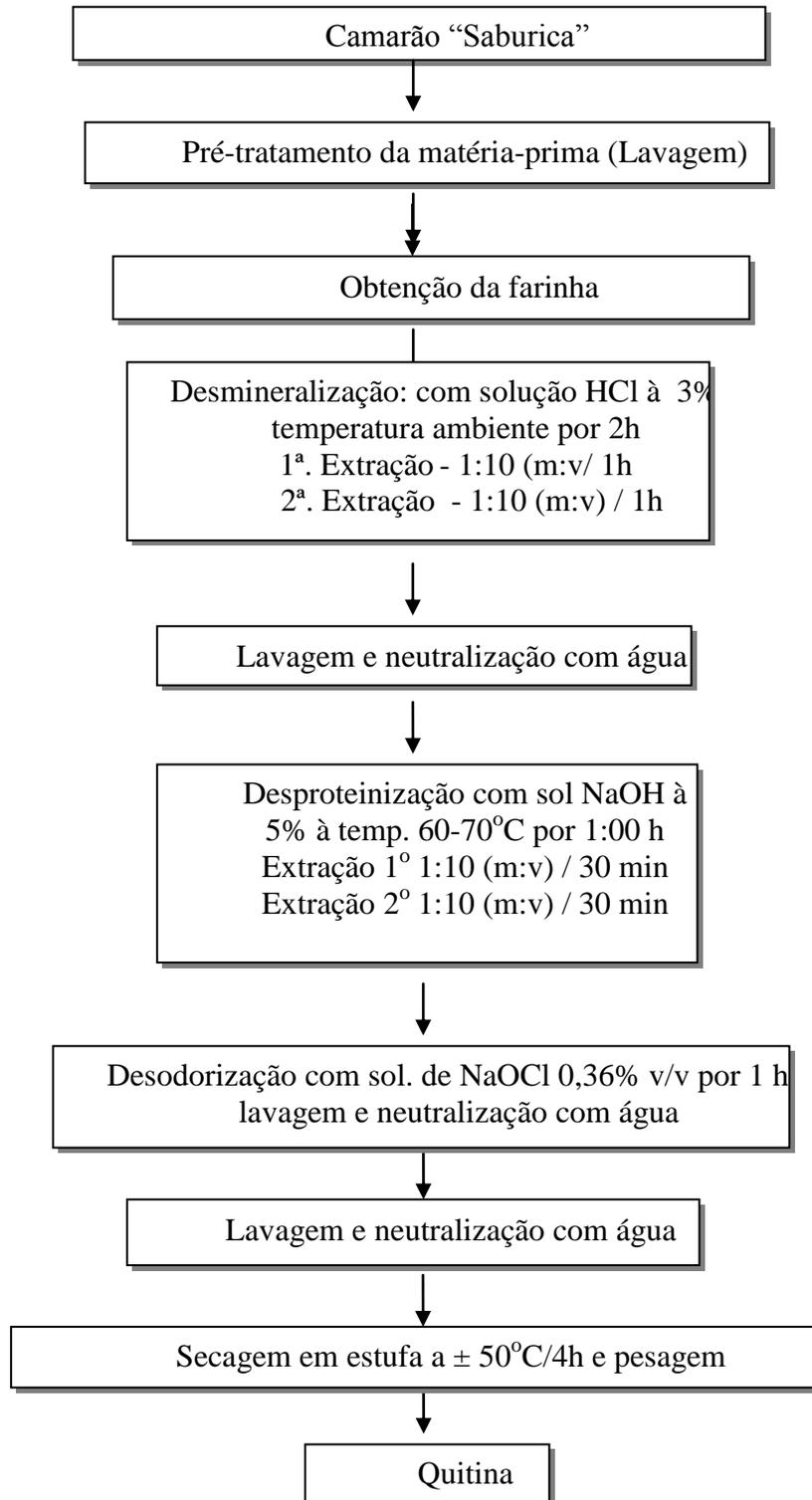


Figura 9. Fluxograma do processo de obtenção de quitina a partir do camarão “Saburica”

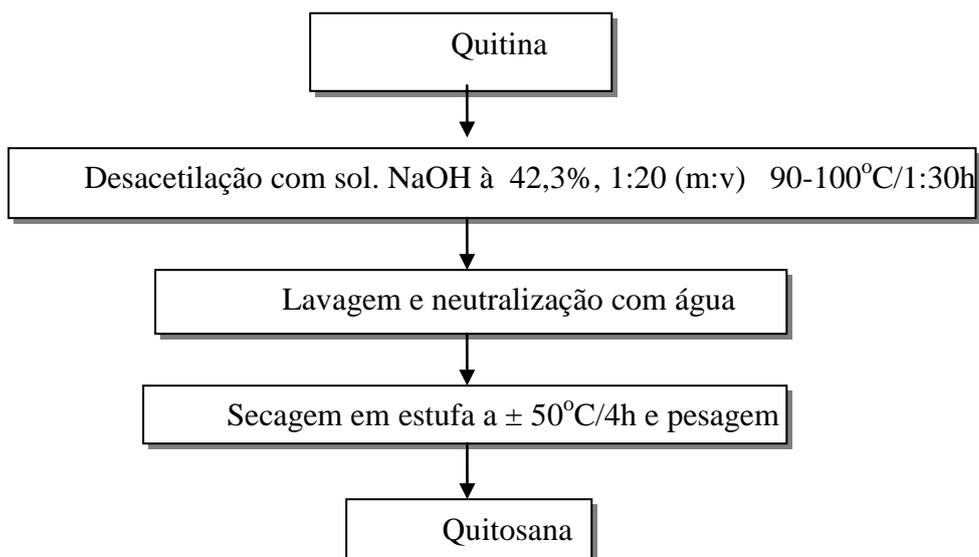


Figura 10. Fluxograma do processo de obtenção de quitosana a partir da quitina do camarão “Saburica”

3.4 Obtenção da farinha do camarão “Saburica”

Os camarões inteiros foram triturados em liquidificador industrial, onde foi formada uma pasta e esta foi seca em secador de bandeja à 70°C (por aproximadamente 8 horas. Após a secagem o material foi novamente triturado em liquidificador industrial para formação de uma farinha com de granulometria de Tyler/mesh 10 (Viatest GMBH- Kuhardt/Germany - Aperture 1,70mm).

3.5 Obtenção de quitina e quitosana

A quitina e quitosana, obtidas a partir do camarão “ saburica” , foram produzidas no Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA/UFS), no Laboratório de Produtos de Origem Animal. A obtenção da quitina e da quitosana seguiu as etapas conforme descrito por Monteiro, Nunes (1995), Weska et al (2007) e adaptado por Oliveira (2010): desmineralização, desproteínização, desodorização e secagem. Após a secagem da quitina foi efetuada a desacetilação para obtenção da quitosana.

3.5.1 Desmineralização

Após a obtenção da farinha, esta foi desmineralizada com ácido clorídrico 3% sob agitação envolvendo duas extrações de 1h cada, totalizando assim um período de 2 horas. Em seguida foram feitas lavagens em água até pH neutro.

3.5.2 Desproteíntização

A desproteíntização foi realizada também em duas etapas. Cada extração contou da adição de solução de hidróxido de sódio 5% na proporção de 1:10 (m:v), à temperatura de 60-70°C, sob agitação por um período de 1 hora, totalizando assim 2:00h. Em seguida foram feitas centrifugações e lavagens sucessivas em água até pH neutro.

3.5.3 Desodorização/Despigmentação

O material desproteíntizado passou por uma desodorização, onde foi adicionada uma solução de hipoclorito de sódio 0,36% com agitação durante 1 hora. Foram realizadas lavagens com água até pH neutro.

3.5.4 Secagem da quitina

Após a etapa de desodorização procedeu-se a secagem do material em estufa à temperatura de 50°C por 4 horas.

3.5.5 Desacetilação da quitina

Nesta etapa (Figura 10) foi realizada uma hidrólise com solução de hidróxido de sódio a 42,3 % na proporção quitina/solução de 1:20 à temperatura de 95-100°C durante o tempo de uma hora e meia.

3.6 Análises físico-químicas

3.6.1 Análises físico-químicas

Foram realizadas análises físico-químicas da matéria-prima e da farinha do camarão ‘Saburica’. Os métodos analíticos foram umidade, cinzas e proteínas segundo as metodologias descritas nos itens nº 950.46.41, 920.153 e 928.08, respectivamente (AOAC, 2000). O teor de lipídios foi determinado seguindo os procedimentos de Bligh e Dyer (1959).

A análise de pH foi efetuada com o auxílio de um potenciômetro Morien MPAQ10, seguindo os parâmetros descritos pelo método nº 947.05 da A.O.A.C., (2000). A atividade de

água foi realizada de acordo com o método 978.18, descrito pela A.O.A.C., (2000) utilizando-se o aparelho do tipo AQUALAB (modelo Series 3 TE). As etapas do processo de obtenção da quitina e quitosana foram monitoradas através dos seguintes parâmetros: cinzas, umidade e nitrogênio total (AOAC, 2000).

3.6.2 Determinação do grau de desacetilação da quitosana

A determinação do grau de desacetilação da amostra de quitosana foi realizada pelo método de titulação potenciométrica linear, utilizando-se uma solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ como titulante. Esta análise é feita dissolvendo-se 0,2 g de quitosana em 20 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹, e diluída até 100 mL com água destilada. A titulação foi realizada após 12 horas, para que a quitosana dissolvesse melhor. Foram adicionadas alíquotas de 0,5 mL da solução titulante até que o pH final fosse igual a 12. Foi feita uma curva de titulação da quitosana, onde são verificados dois pontos de inflexão sendo o primeiro (V1), correspondente a neutralização de HCl em excesso na solução e o segundo(V2), referente à neutralização do polímero protonado.

O grau de desacetilação da quitosana foi calculado utilizando-se a equação (1):

$$(1) \% \overline{GD} = (M (V_2 - V_1) 161 \times 100) / W$$

Onde:

\overline{GD} é o grau médio de desacetilação;

V_1 é o volume de base usado na neutralização de HCl em excesso, expresso em mL;

V_2 é o volume de NaOH correspondente à neutralização dos grupos amino presentes no polímero, expresso em mL;

M é a concentração da solução de NaOH e

W é a massa da quitosana em mg.

O valor 161 corresponde à massa equivalente a um monômero do polímero (BROUSSIGNAC, 1972).

3.7 Produção do biofilme de quitosana

Foram preparados biofilmes com concentrações de 0,25%, 0,5% e 1% de quitosana, de acordo com Chien et al (2007) onde 0,625g, 1,25g e 2,5g de quitosana foram dispersos em 10mL de solução de ácido acético 0,5M, por 20hs, para dissolver a quitosana e em seguida foi

adicionado 200mL de água destilada. O pH da solução foi ajustado para 5 com solução de NaOH. O volume foi aferido para 250ml com água destilada.

3.8 Processamento mínimo das mangas e aplicação do biofilme

As mangas foram obtidas em um supermercado de Aracaju-SE. As frutas foram selecionadas de acordo com a uniformidade, tamanho, cor e ausência de danos.

No Laboratório de Produtos de Origem Animal no DTA, as mangas foram lavadas e sanitizadas com desinfetante clorado (Sumaveg) na concentração de 200ppm de cloro ativo, descascadas e cortadas em fatias. Em seguida as fatias das mangas foram imersas nas soluções biofilmogênicas de quitosana, nas concentrações de 0,25%, 0,5% e 1,0%, com posterior secagem natural e acondicionadas em embalagens de polipropileno (PP). As embalagens foram mantidas sob refrigeração à temperatura de $5\pm 1^{\circ}\text{C}$. Na amostra controle não foi aplicado o biofilme. A Figura 11 mostra o fluxograma do processamento mínimo das mangas com posterior aplicação do biofilme durante 10 dias de armazenamento.

3.8.1 Análises físico-químicas

Foram efetuadas as seguintes análises físico-químicas nos produtos revestidos e na amostra controle: teor de sólidos solúveis, acidez titulável, pH, ácido ascórbico e cor. As análises foram efetuadas durante 10 dias de armazenamento em intervalos de 5 dias.

3.8.1.1 Determinação do teor de Sólidos Solúveis (SS)

Para o cálculo do teor de sólidos solúveis foi feita a leitura direta em refratômetro manual (Abbé), com resultados expressos em °Brix (Instituto Adolfo Lutz, 2005). Foram realizadas três repetições para cada tratamento.

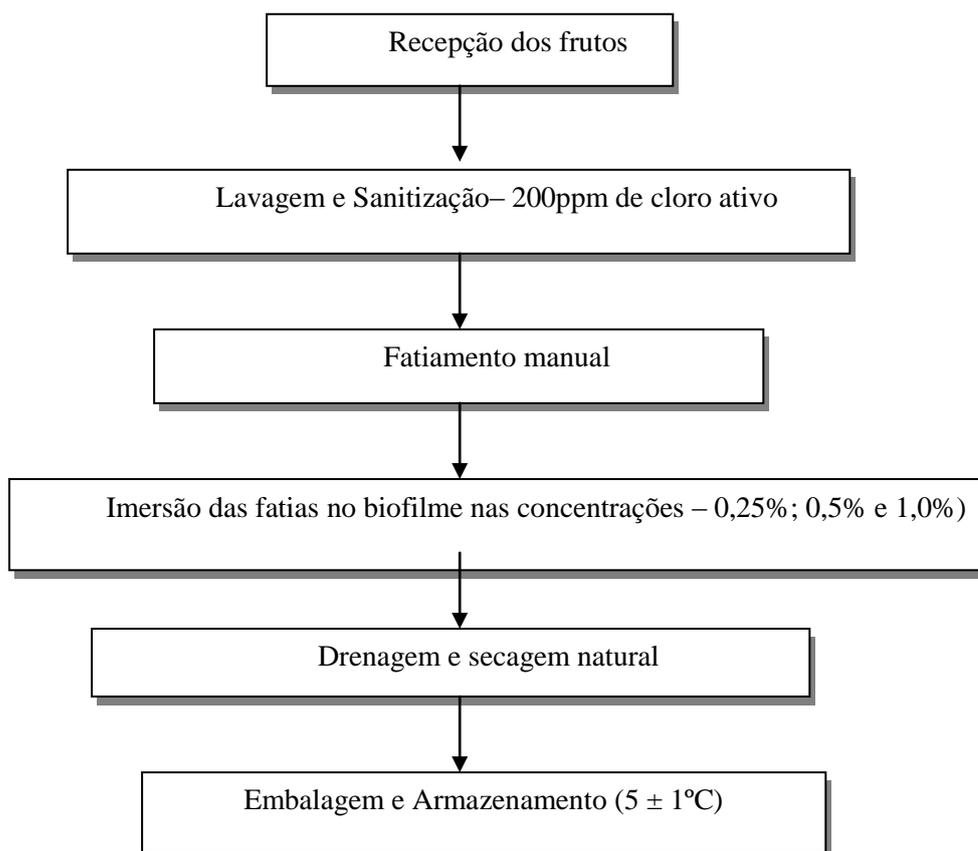


Figura 11. Fluxograma do processamento mínimo das mangas com posterior aplicação do biofilme e estocagem refrigerada

3.8.1.2 Determinação da Acidez Titulável (AT)

Para determinação da acidez foi utilizada solução de NaOH 0,1 M e indicador fenolftaleína 1%, de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2005). Os resultados foram expressos em % de ácido cítrico. 100^{-1} g de polpa.

3.8.1.3 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada com o mesmo material utilizado na obtenção da AT. A solução foi homogeneizada e antes da adição do NaOH foi feita a leitura em peagâmetro digital de bancada acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2005). Foram realizadas três repetições para cada tratamento.

3.8.1.4 Determinação de Ácido Ascórbico

Foi utilizado o método colorimétrico, onde a amostra é triturada e diluída em ácido oxálico a 2% e titulada com a solução corante de DCPIP (Solução de 2,6-diclorofenol indofenol), de acordo com as técnicas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

3.8.1.5 Análise de cor

Determinada em colorímetro da marca minolta (Color Read, CR-10) com leituras expressas em L, a* e b* segundo recomendação de SACKS e SHAW (1994 apud CHAGAS et al, 2008), onde L (luminosidade) varia de 0 (preto) a 100 (branco), a* (cromaticidade no eixo da cor verde (-) para vermelha (+)) e b* (cromaticidade no eixo da cor azul (-) para amarela (+)).

3.9 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Produtos de Origem Animal no DTA/UFS. Foram recrutados, aleatoriamente, 20 provadores não treinados, os quais receberam quatro amostras em embalagens de polipropileno codificadas com 3 dígitos aleatórios, uma caneta e ficha para a avaliação da aceitabilidade das amostras em relação à aparência global, cor e brilho (Figura 12). Foi utilizada uma escala hedônica de nove pontos, com extremidades denominadas “desgostei muitíssimo” a “gostei muitíssimo” (STONE & SIDEL, 1993). A análise sensorial foi efetuada em intervalos de 5 dias, durante 20 dias, com os mesmos provadores.

3.10 Análise Microbiológica

Foi realizada análise de bolores e leveduras nas amostras (controle e com revestimento), em meio Batata Dextrose Agar (BDA) (Potato Dextrose Agar) (ASSIS e ALVES, 2002). As análises foram efetuadas durante 10 dias de armazenamento em intervalos de 5 dias.

3.11 Análise estatística

A análise estatística foi feita com auxílio do programa de computação *Statistical Analysis System* (SAS). Os resultados foram submetidos à análise de variância e diferenças estatísticas entre médias foram detectadas pelo Teste de Tukey, ao valor nominal de 5% de probabilidade. Todas

Nome:

Data:

1. Por favor, avalie a APARÊNCIA destas amostras de mangas fatiadas e indique na escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou da APARÊNCIA GLOBAL de cada amostra.

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

Amostra	Valor
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

2. Agora, OLHE as amostras novamente, e usando a escala acima, indique o quanto você gostou ou desgostou da COR de cada amostra.

Amostra	Valor
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

3. Finalmente, usando a escala acima, indique o quanto você gostou ou desgostou do BRILHO de cada amostra.

Amostra	Valor
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Figura 12. Modelo da ficha utilizada na avaliação sensorial

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização biométrica e físico-química do camarão e da farinha obtida

A Tabela 2 apresenta a biometria - comprimento e peso médios do camarão “Saburica”, enquanto a Tabela 3 apresenta os dados do rendimento do camarão “Saburica” in natura (carne, casca e cabeça) e da farinha obtida.

Tabela 2. Comprimento e peso médios do camarão “Saburica”

	Comprimento (mm)	Peso (g)
Camarão saburica	32,37 ±0,65	0,23±0,04

Tabela 3. Rendimento do camarão “Saburica” (carne, casca e cabeça) e da farinha do camarão

Especificações	Rendimento (%)	
Camarão	Carne	26,60
	Casca	21,30
	Cabeça	51,10
Farinha	Integral	20,00
	Média (10 mesh)	37,90

Os rendimentos obtidos da carne e dos resíduos (casca e cabeça) do *Macrobrachium jelskii* foi de 26,60% e 72,40% enquanto Silveira (2002), para a espécie *Macrobrachium olfersii*, espécie de água doce de pequeno porte e muitas vezes confundida com o *M. Jelskii*, foi de 30,3% e 69,7%, respectivamente.

Em outras espécies de *Macrobrachium* Lobão *et al.* (1984 apud SILVEIRA 2002) obteve uma porcentagem de resíduo de 69,1% e 61,4% para *M. acanthurus* do *M. rosenbergii*, respectivamente..

O rendimento da farinha obtido do *Macrobrachium jelskii* inteiro foi de 20%, valor semelhante ao encontrado por Damasceno (2007), que obteve um rendimento de 20,01% de farinha de resíduos de *Litopenaeus vannamei*.

A Tabela 4 apresenta os resultados das análises pH, Aw e da composição centesimal do camarão “Saburica” e da farinha obtida.

Tabela 4 - Caracterização físico-química do camarão “Saburica” e da farinha obtida

	Camarão	Farinha
Umidade (%)	55,33 ±0,23 ^a	6,24 ±0,14 ^b
Cinzas (%)	1,59 ±0,09 ^b	14,47 ±0,02 ^a
Proteína (%)	18,12 ±0,16 ^b	62,51 ±0,60 ^a
Lipídios (%)	2,13 ±0,09 ^b	8,61±0,13 ^a
Carboidrato	22,83±0,506 ^a	8,17 ^b
pH	8,0 ±0,10 ^a	7,8 ±0,01 ^b
Aa	0,949 ±0,01 ^a	0,50 ±0,00 ^b

Médias com letras iguais na mesma linha não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

Os resultados do pH, Aa e dos componentes químicos da carne do *Macrobrachium jelskii* e da farinha diferiram significativamente. Houve redução nos teores de umidade, pH e A_a devido a secagem e os teores de proteínas, cinzas e lipídios aumentaram proporcionalmente. Os carboidratos são referentes à presença da fibra –quitina.

O *Macrobrachium jelskii* inteiro apresentou 55,32% de umidade, valor superior ao encontrado por Vieira (2003) em estudo com *Macrobrachium amazonicum* (camarão sossego) que foi 51,60%. Houve redução de 55,32% para 6,24% com a secagem para a obtenção da farinha. Valor semelhante foi encontrado por Duarte, Sousa (2001, apud VIEIRA, 2003) que obteve farinha de resíduos de *Macrobrachium amazonicum* com 6,71% de umidade.

O pH do *Macrobrachium jelskii* foi de 8,0. Com a secagem houve uma pequena diminuição no pH, obtendo assim uma farinha com pH 7,8, o mesmo comportamento ocorreu em relação a Aw, cujos valores foram no camarão inteiro de 0,949, enquanto de 0,506 na farinha.

O teor de lipídios do *Macrobrachium jelskii* foi de 2,12%, valor superior ao encontrado por Vieira (2003) que obteve 1,3% de lipídios em *Macrobrachium amazonicum*. A farinha do camarão “Saburica” apresentou um teor de lipídios de 8,06%, superior ao encontrado por Duarte, Sousa (2001, apud VIEIRA, 2003) que obteve farinha de *Macrobrachium amazonicum* com 5,78% de lipídios.

O teor de proteínas do *Macrobrachium jelskii* foi de 18,12%, valor inferior ao encontrado por Vieira (2003) sendo 29,10% o teor de proteína do *Macrobrachium amazonicum*. O pescado de modo geral apresenta conteúdo protéico variando entre 15 a 24%, cuja variação é determinada por fatores tais como: espécie, idade, época de captura, habitat e desenvolvimento sexual (Duarte, Sousa (2001, apud VIEIRA, 2003).

A farinha apresentou um teor 61,51% de proteínas. Este valor foi inferior ao encontrado por Duarte, Sousa (2001, apud VIEIRA, 2003), que obteve farinha de resíduo de *Macrobrachium amazonicum* com 67% de proteínas.

O teor de cinzas *Macrobrachium jelskii* foi 1,59%, valor superior ao encontrado por Silva et al, (2010) que em estudo com *Macrobrachium rosenbergii*, obteve um teor de cinzas de 0,89%. A farinha apresentou um teor de cinzas de 14,47%, valor semelhante ao encontrado por Boscolo et al, (2004) que obteve farinha integral do *Macrobrachium amazonicum* com 14,26% de cinzas.

4.2 Caracterização das etapas do processo de obtenção da quitina

A quitina e quitosana obtidas podem ser visualizadas através das Figuras 13 e 14, enquanto os dados da variação dos componentes proteínas e cinzas relativos à eficiência dos processos de desproteinização e desmineralização, respectivamente, são apresentadas na Tabela 5.



Figura 13. Quitina



Figura 14. Quitosana

Tabela 5. Variação dos componentes químicos em função das operações durante o processamento da quitina

Etapas	Cinzas (%)	Proteína bruta(%)	Umidade (%)
Farinha de saburica	14,47 ±0,02	62,51 ±0,60	6,24 ±0,14
Desmineralização	0,31 ±0,03	16,79 ±0,51	78,87 ± 0,21
Desproteínização	0,26 ±0,0	7,27 ±0,08	78,21 ±0,16
Quitina (seca)	0,23 ±0,17	-	8,8 ± 0,52

A partir da análise da Tabela 5 pode-se observar que durante as etapas do processo houve um grande aumento da umidade em relação à matéria-prima. Isso se deve à adição de soluções aquosas e lavagens ao longo do processo. Observa-se que houve uma redução considerável nos percentuais de cinzas na etapa da desmineralização, cujo objetivo foi reduzir o teor de cinzas da matéria-prima. Também houve diminuição no teor de proteínas, mostrando a eficiência dos tratamentos na etapa de desproteínização, respectivamente.

4.3 Caracterização da quitosana

A quitosana obtida manteve uma boa qualidade, com baixo percentual de cinzas e pH neutro (Tabela 6).

Tabela 6. Resultado das análises de cinzas, pH e umidade da quitosana

Amostra	Cinzas (%)	pH	Umidade (%)
Quitosana	0,21 ± 0,09	7,01 ± 0,27	6,06 ±0,01

A Tabela 6 mostra que a quitosana produzida atende aos parâmetros dos produtos comerciais, pois segundo dados do Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) da Universidade Federal do Ceará, estas apresentam umidade < 10% e teor de cinzas < 1% (HENNIG, 2009).

4.3.1 Rendimento

A Tabela 7 apresenta o rendimento da obtenção de quitina e quitosana em relação à farinha de camarão “Saburica”.

O rendimento encontrado para a quitina de camarão saburica foi aproximado ao encontrado por Hennig (2009) que obteve rendimento de 5,3% de quitina a partir do camarão *Penaeus brasiliensis*.

Tabela7. Rendimento do processo de obtenção de quitosana

Etapas	(%)
Quitina seca	5,90
Desacetilação (quitosana úmida)	17,29
Quitosana seca	5,06

O rendimento da quitosana foi superior ao encontrado por Hennig (2009), que obteve rendimento de 2,5%. A diminuição no rendimento ocorreu devido à redução de massa na produção de quitosana, a qual se deve pela retirada do grupo acetil da quitina.

4.4 Determinação do grau de desacetilação da quitosana

A Figura 15 mostra a curva obtida na análise do grau de desacetilação determinada através de uma titulação potenciométrica linear que relaciona o volume de NaOH (ml) e o pH.

A desacetilação consiste na retirada do grupo funcional acetil da molécula da quitina que será substituído pelo grupo funcional amina, dando origem a molécula da quitosana.

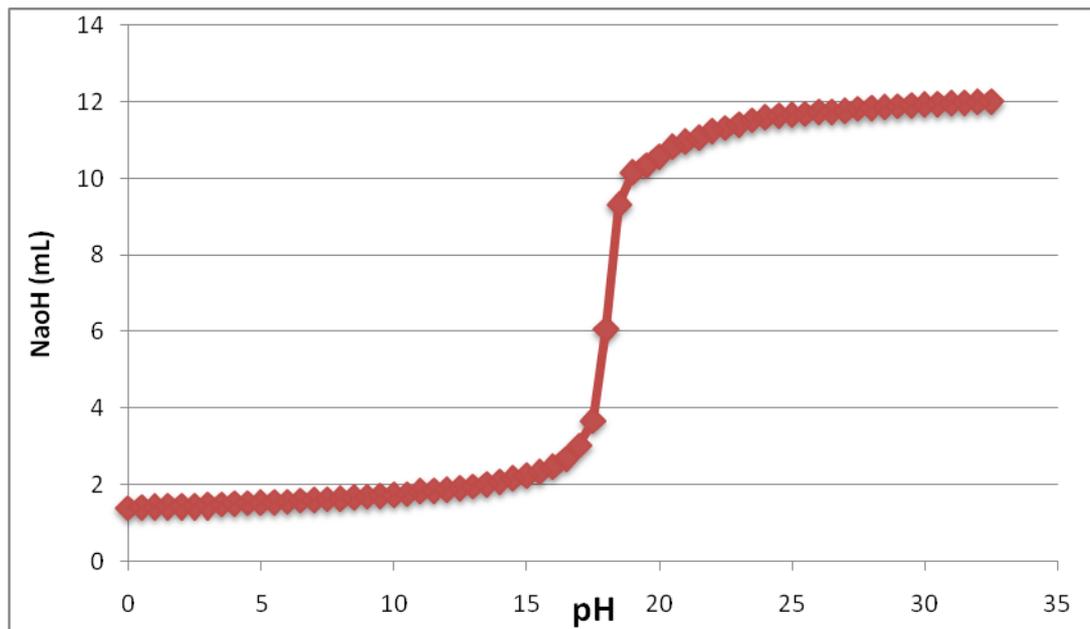


Figura 15. Curva da titulação potenciométrica da quitosana

Foi possível observar que a curva apresenta dois pontos de inflexão, sendo o primeiro relacionado à neutralização do excesso de HCl na solução e o segundo ponto referente a neutralização dos grupos amino protonados. O grau de desacetilação calculado por este método foi de 76,2%, encontrando-se dentro da faixa dos dados encontrados na literatura, os quais podem variar de 50,0 a 92,3% (MARTINO, 1996)).

Existem vários métodos descritos na literatura para a determinação do grau de desacetilação da quitosana (espectroscopia no infravermelho, ressonância magnética nuclear de carbono 13, espectroscopia no UV-Vis, titulação: condutimétrica, potenciométrica) (RATHKE, HUDSON, 1993 apud KUMAR, 2000), mas a titulação potenciométrica, em função de sua simplicidade e precisão, foi selecionada para este trabalho.

4.5 Análises físico-químicas das mangas revestidas com biofilme de quitosana

A Tabela 8 apresenta os resultados das análises de cor das mangas “Tommy”, minimamente processadas e revestidas com biofilme de quitosana e armazenadas à temperatura de refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) durante 10 dias de armazenamento.

Para os valores de a, onde (+a = vermelho; -a* = verde; +b* = amarelo; -b* = azul), houve diferença significativa entre as amostras controle e as amostras revestidas com biofilme apenas no tempo 0.

Tabela 8. Valores médios de a, b e L das fatias de manga “Tommy”, revestidas com biofilme de diferentes concentrações de quitosana em temperatura de refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) durante 10 dias de armazenamento

Tratamentos	a	b	L
Tempo 0			
Controle	10,73 ^b	57,10 ^a	44,30 ^b
0,25%	13,63 ^{ab}	66,73 ^a	56,90 ^a
0,5%	14,86 ^a	65,26 ^a	54,53 ^a
1,0%	14,06 ^a	63,43 ^a	54,40 ^a
Tempo 5			
Controle	13,76 ^a	62,96 ^a	54,06 ^a
0,25%	13,90 ^a	61,23 ^a	51,30 ^a
0,5%	13,26 ^a	63,13 ^a	51,80 ^a
1,0%	14,70 ^a	66,80 ^a	57,36 ^a
Tempo 10			
Controle	11,00 ^a	58,86 ^a	47,06 ^a
0,25%	13,30 ^a	64,56 ^a	56,46 ^a
0,5%	13,00 ^a	62,63 ^a	52,80 ^a
1,0%	13,26 ^a	62,06 ^a	50,60 ^a

Para cada tempo, médias com letras em comum na mesma coluna não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

A mudança na coloração, que ocorre ao longo do período de maturação e amadurecimento do fruto, sem dúvida, é o critério mais utilizado pelo consumidor para julgar sua maturidade, como também conferir atratividade a este, e é resultante da diminuição da concentração de clorofila em favor da concentração de carotenóides.

Foi observada uma mudança na coloração na superfície das amostras que pode ser atribuída ao escurecimento enzimático. A ruptura dos tecidos permite o contato da enzima polifenoloxidase com os componentes fenólicos e O_2 causando o escurecimento. Geralmente as coberturas reduzem a exposição dos frutos ao O_2 (SOTHORNVIT, RODSAMRAN, 2008).

Ao final do armazenamento a amostra controle obteve menor valor de a (cor vermelha) do que as amostras revestidas com o biofilme, mesmo assim, não houve diferenças significativas entre as amostras durante os 10 dias de armazenamento.

Quanto ao valor de b (amarelo), também não houve diferença significativa entre as amostras durante os 10 dias de armazenamento, sendo que a amostra controle obteve um menor valor de b ao final do experimento quando comparadas com os demais tratamentos. Isso Também foi observado por Alves et al, (2010), durante um estudo com mangas “Palmer”

minimamente processadas, onde obteve menor valor de b durante armazenamento refrigerado. A redução do valor b indica que houve uma diminuição da coloração amarela da polpa, decorrente dos cortes sofridos, podendo ocorrer oxidação enzimática, por meio da interação entre substratos e enzimas e, também, por degradação de vitaminas, principalmente os carotenóides que conferem pigmentação que variam do amarelo ao vermelho, sobretudo o beta-caroteno que está relacionado com a pigmentação amarela.

A variável L representa o brilho superficial, podendo variar de 0 a 100 (desde cores escuras/opacas a cores brancas/máximo brilho). Neste estudo houve apenas diferença significativa entre a amostra controle e as amostras revestidas com o biofilme no 1º dia de armazenamento. Ao final do experimento não houve diferença significativa entre a amostra controle e as amostras revestidas com biofilme, embora a amostra controle tenha apresentado um menor valor em relação às outras amostras.

A Tabela 9 apresenta os resultados das análises físico-químicas das mangas “Tommy”, minimamente processadas, revestidas com biofilme de quitosana e armazenadas à temperatura de refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) durante 10 dias de armazenamento .

Foi observado que no tempo “0” não houve diferenças significativas em nenhum dos parâmetros em função da concentração do biofilme aplicado, enquanto após 10 dias de armazenamento todos os tratamentos diferiram do controle. Os teores de sólidos solúveis totais encontrado nas mangas minimamente processadas e revestidas com o biofilme de quitosana situaram-se próximo ao obtido por Rodrigues et al, (2008) que foi de 13,17 em mangas “Tommy”.

Tabela 9. Características físico-químicas das fatias de manga “Tommy”, revestidas com diferentes concentrações de biofilme de quitosana, durante a estocagem refrigerada ($5 \pm 1^\circ\text{C}$)

Tratamentos	Sólidos solúveis totais ($^\circ\text{Brix}$)	Ácido ascórbico (mg/100g)	Acidez titulável (%)	pH
<i>Tempo 0</i>				
Controle	12,58 ^a	23,63 ^a	0,27 ^a	4,08 ^a
0,25%	12,08 ^a	23,50 ^a	0,27 ^a	3,94 ^a
0,5%	12,10 ^a	23,55 ^a	0,32 ^a	4,07 ^a
1,0%	13,28 ^a	23,74 ^a	0,29 ^a	4,07 ^a
<i>Tempo 5</i>				
Controle	13,10 ^a	11,29 ^b	0,26 ^a	4,02 ^a
0,25%	11,50 ^b	11,26 ^b	0,26 ^a	4,19 ^a
0,5%	13,00 ^a	11,27 ^b	0,26 ^a	4,01 ^a
1,0%	12,68 ^{ab}	11,30 ^b	0,24 ^a	4,36 ^a
<i>Tempo 10</i>				
Controle	14,50 ^a	7,71 ^b	0,28 ^a	4,00 ^a
0,25%	12,58 ^c	8,11 ^b	0,17 ^a	3,96 ^a
0,5%	13,33 ^{bc}	8,73 ^b	0,17 ^a	4,33 ^a
1,0%	13,50 ^b	8,85 ^b	0,23 ^a	4,07 ^a

Médias com letras em comum na mesma coluna não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

Foi observado que no tempo “0” não houve diferenças significativas em nenhum dos parâmetros em função da concentração do biofilme aplicado, enquanto após 10 dias de armazenamento todos os tratamentos diferiram do controle. Os teores de sólidos solúveis totais encontrado nas mangas minimamente processadas e revestidas com o biofilme de quitosana situaram-se próximo ao obtido por Rodrigues et al, (2008) que foi de 13,17 em mangas “Tommy”.

Os sólidos solúveis indicam a quantidade dos sólidos que se encontram dissolvidos no suco ou na polpa das frutas, sendo designados como $^\circ\text{Brix}$, apresentando tendência de aumento com a maturação (GUEDES, 2007). Em relação ao período de armazenagem após 10 dias todas as amostras, inclusive o controle, apresentaram um aumento no teor de sólidos solúveis. Só foi detectada diferença significativa nas amostras revestidas com biofilme na concentração de 1% no tempo de 5 dias e de 0,5% e 1% para o período de 10 dias de armazenagem. Alves et al, (2010), estudando a cinética de degradação em mangas “Palmer”, também observou um aumento no teor de sólidos solúveis durante 10 dias de armazenagem.

O acúmulo de açúcares, durante a vida útil dos vegetais, pode ocorrer em decorrência da conversão do amido em açúcares. O aumento no teor de SS pode vir também da síntese de compostos secundários como fenólicos simples, em resposta às etapas do processamento mínimo (CHITARRA, CHITARRA, 2005 apud ALVES et al, 2010) e também pelo acúmulo de ácidos orgânicos.

Analisando a Tabela 9 observa-se uma diminuição considerável no teor de vitamina C, em todas as amostras, no tempo 0 ao tempo 5 indicando diferença significativa no período de armazenagem. Não foi apresentada diferenças significativas entre o período de 5 e 10 dias de armazenagem. Observou-se que a concentração de quitosana nos biofilmes não exerceu influência sobre os teores de ácido ascórbico nas mangas, apresentando redução ao longo do armazenamento. O ácido ascórbico é um dos mais importantes fatores de qualidades nutricionais em muitas horticulturas. Marfil et al, (2008) afirma que a vitamina C pode ser utilizada como indicativo de mudanças na qualidade do produto. Segundo Chitarra, Chitarra (2005 apud ALVES et al, 2010) o teor de vitamina C tende a diminuir com o armazenamento, pois os danos mecânicos causados pelo processamento mínimo nos tecidos promovem a desorganização celular ocasionando a oxidação do ácido ascórbico, em razão da atuação direta da enzima ácido ascórbico oxidase (ascorbinase), ou pela ação de enzimas oxidantes como a peroxidase.

Ao final do experimento o teor de ácido ascórbico na amostra com biofilme a 1% de quitosana foi superior às outras amostras, mesmo assim não houve diferença significativa entre as amostras controle e as revestidas com biofilme. O teor de ácido ascórbico da manga “Tommy” analisada foi superior ao encontrado por Rodrigues et al, 2008, que obteve 19,32 (mg/100g) em estudo com mangas “Tommy” e inferior ao encontrado por Chien et al, (2007) em mangas “Irwin”, que obteve 25,02 (mg/100g).

Em relação à acidez titulável, não foram observadas diferenças significativas entre o controle e as diversas concentrações de biofilme e durante a armazenagem das amostras.

Normalmente, os ácidos orgânicos tendem a diminuir no decorrer do armazenamento, à medida que são utilizados durante a respiração ou convertidos em açúcares, como o que acontece com “pequis” minimamente processados e armazenados a 6°C durante 15 dias. Contudo, podem aumentar, como ocorre em banana e abacaxi, atingindo altos níveis no estágio pleno de amadurecimento (DAMIANI et al, 2008 apud ALVES et al, 2010).

Leves alterações na acidez titulável das amostras durante o armazenamento, provavelmente, podem ser atribuídas ao baixo metabolismo respiratório que gerou um acúmulo de ácidos nos vacúolos, à medida que os teores de sólidos solúveis foram

umentando. Nas amostras com biofilme, onde os teores de sólidos solúveis foram menores, houve uma diminuição da acidez titulável. Mesmo assim, não houve diferença significativa entre as amostras.

Valores muito altos ou muito baixos não são recomendados em frutos bons. Jiang et al (2004, apud ABBASI et al., 2009) relataram o efeito da cobertura de quitosana em frutos longan e descobriram que a acidez titulável diminuiu durante a estocagem.

Para o pH das amostras os valores médios obtidos variaram de 3,94 a 4,19 e não houve diferenças significativas entre o controle e as amostras revestidas com o biofilme em nenhum período da armazenagem resfriada. Os valores encontrados são compatíveis com os encontrados por Bleiroth (1985, apud OLIVEIRA, 2005), que pesquisou diversas cultivares de manga e encontrou valores na faixa de 3,40 a 4,29.

Observa-se, porém, que o pH da amostra controle apresentou uma diminuição durante o armazenamento à medida que a acidez titulável foi aumentando (Tabela 9). As amostras com biofilme de 0,25% e 1,0% apresentaram um aumento do pH no tempo 5. Ao final do armazenamento o pH diminuiu, não havendo diferenças significativas entre as amostras. A amostra com biofilme de 0,5% apresentou um aumento do pH ao final do armazenamento, comportamento similar foi observado por Pfaffenbach (2003), que em seu trabalho com manga “Espada Vermelha”, verificaram valores crescentes de pH, de 4,2 na colheita a 4,9 o período final de avaliação dos frutos armazenados sob refrigeração.

4.5.1 Análise sensorial

Os resultados dos atributos sensoriais analisados - aparência global, cor e brilho das fatias de manga, minimamente processadas e revestidas com diferentes concentrações de biofilme de quitosana durante a armazenagem refrigerada ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) podem ser visualizados através das Figuras 16, 17 e 18.

Pode ser observado que no 5º dia de armazenamento a média da amostra revestida com biofilme com concentrações de 0,25% de quitosana foi menor do que as médias avaliadas no 10º e 20º dias. Neste caso levou-se em consideração que houve alguma interferência no armazenamento da amostra e isso influenciou o julgamento dos provadores. Deste modo, essa amostra foi descartada da análise de dados e chamada de *Outlier* (valores discrepantes e isolados da maior parte dos dados da amostra) (SANTOS, 2009).

Na Figura 16 observa-se um decréscimo linear nas médias atribuídas à aparência da amostra controle e das amostras revestidas com biofilme a 0,25% e 0,5% de quitosana durante

o período de armazenamento, diferindo da amostra revestida com biofilme a 1% que manteve a aparência constante.

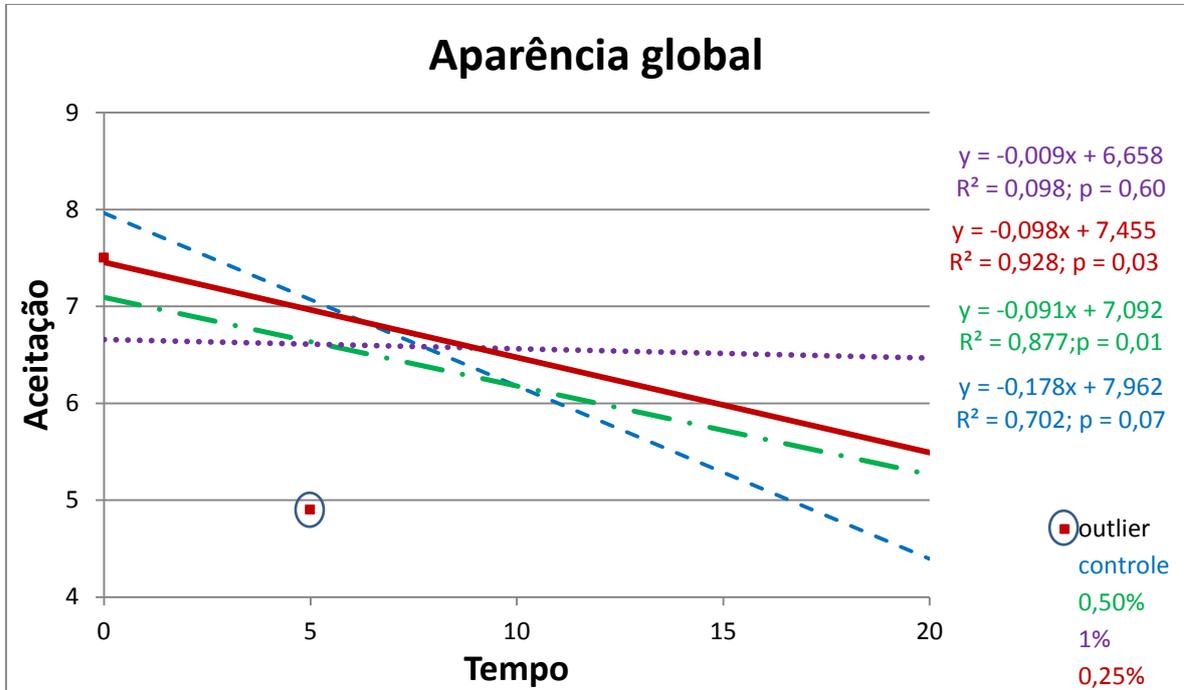


Figura 16. Perda da qualidade da aparência global das mangas revestidas com biofilme em função do tempo de armazenamento.

(1) = desgostei extremamente (detestei); (5) = nem gostei/nem desgostei; (9) = gostei extremamente (adorei)

A variação da cor no decorrer do armazenamento pode ser observada na Figura 17, onde as médias da amostra controle e das amostras revestidas com biofilme a 0,25% e 0,5% diminuíram linearmente durante o período de armazenamento. A amostra com 1% de quitosana apresentou apenas uma menor variação linear decrescente no decorrer do tempo de armazenamento, apresentando em relação às outras amostras, um melhor comportamento no 20° dia de armazenamento.

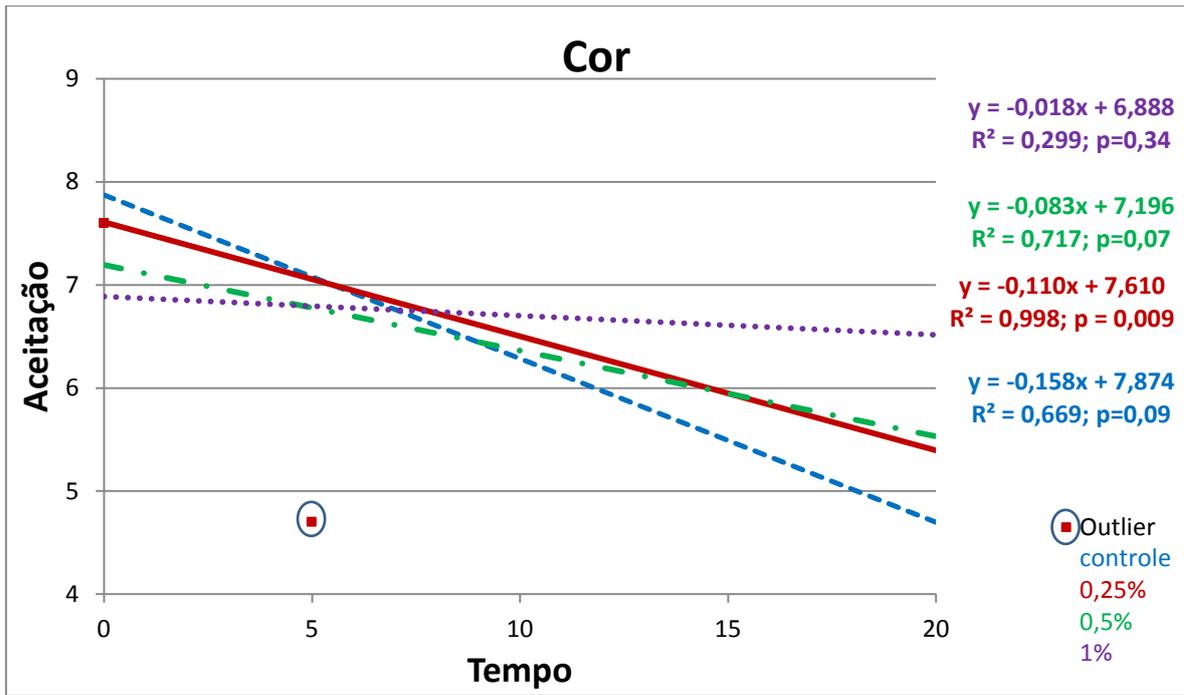


Figura 17. Perda da qualidade da cor das mangas revestidas com biofilme em função do tempo de armazenamento.

(1) = desgostei extremamente (detestei); (5) = nem gostei/nem desgostei; (9) = gostei extremamente (adorei)

A variação do brilho no decorrer do armazenamento pode ser observada na Figura 18, onde da amostra controle e das amostras revestidas com biofilme diminuíram linearmente durante a estocagem refrigerada. A amostra controle apresentou menor valor ao final do armazenamento, com média 4,5 variando entre “desgostei ligeiramente” à “nem gostei/nem desgostei”. No entanto, não houve diferenças significativas entre a amostra controle e as amostras com o biofilme. O brilho e a aparência são atributos importantes em frutas e hortaliças, tornando-se interessante o uso de películas comestíveis eficientes no incremento da luminosidade, que, em associação a outras características, pode favorecer a aceitação pelo consumidor.

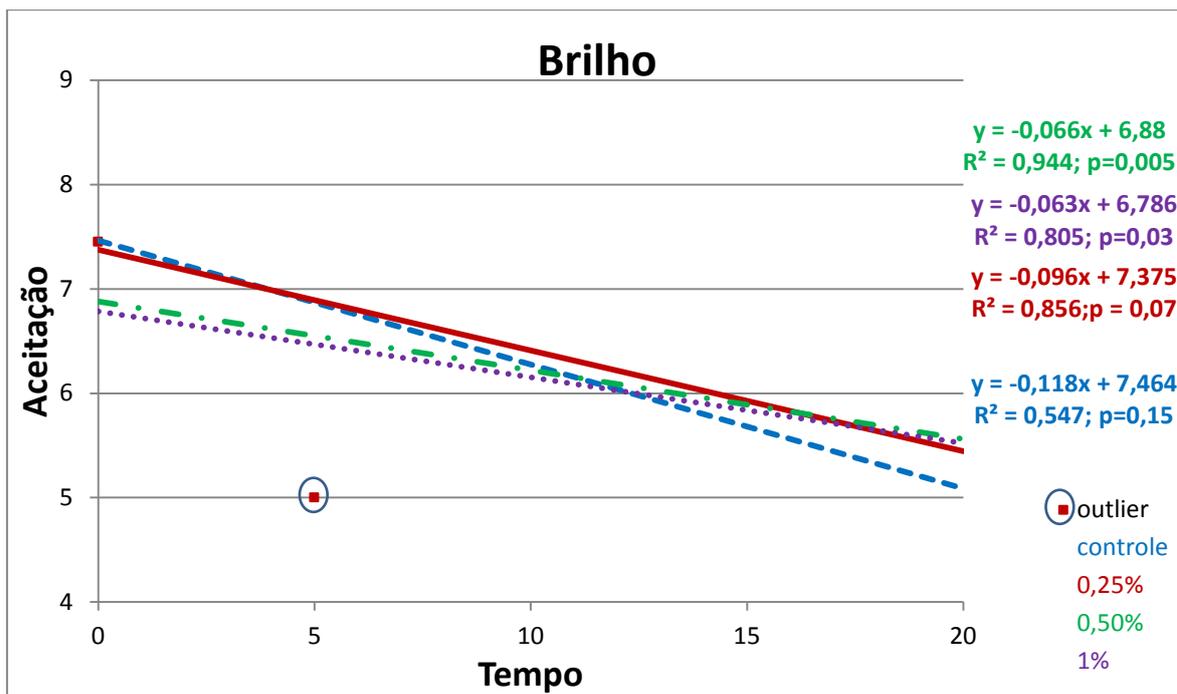


Figura 18. Perda da qualidade do brilho das mangas revestidas com biofilme em função do tempo de armazenamento.

(1) = desgostei extremamente (detestei); (5) = nem gostei/nem desgostei; (9) = gostei extremamente (adorei)

Na Tabela 10 constata-se que para os atributos aparência global e cor houve diferença significativa entre o controle e todas as amostras tratadas com o biofilme de quitosana, nas diversas concentrações e nos diversos tempos de armazenagem refrigerada. As fatias cobertas com o biofilme com 1% de quitosana obtiveram as maiores médias para os atributos aparência global e cor onde a aceitação, após 20 dias de armazenagem variaram entre “nem gostei/nem desgostei a gostei moderadamente. O parâmetro brilho apenas na concentração de 0,25% apresentou diferença significativa em relação à amostra controle.

Tabela 10. Aceitação média dos atributos aparência global, cor e brilho de fatias de mangas “Tommy”, revestidas com biofilme de diferentes concentrações de quitosana à temperatura de refrigeração (5 ± 1°C) no 20º dia de armazenagem (n = 20 provadores)

Atributo	Controle	0,25%	0,5%	1,0%
Aparência	3,75 ^c	5,45 ^{ab}	5,15 ^b	6,35 ^a
Cor	4,00 ^c	5,30 ^b	5,55 ^{ab}	6,40 ^a
Brilho	4,50 ^b	5,50 ^a	5,45 ^{ab}	5,40 ^{ab}

Médias com letras em comum em uma mesma linha não diferem entre si a p ≤ 0,05.

(1) = desgostei extremamente (detestei); (5) = nem gostei/nem desgostei; (9) = gostei extremamente (adorei)

Nas Figuras 19 a 23 pode-se visualizar os resultados comparativos do controle e das fatias de manga minimamente processadas revestidas com diferentes concentrações de biofilme de quitosana e durante a armazenagem refrigerada.

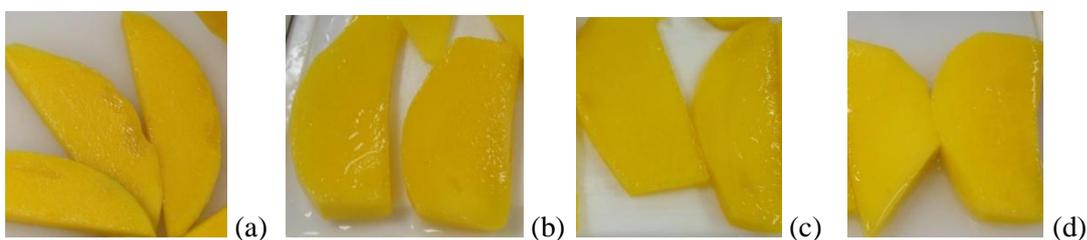


Figura 19 - Amostras no 1º dia de armazenamento: (a) Controle, (b) biofilme a 0,25% de quitosana, (c) biofilme a 0,5% de quitosana e (d) biofilme a 1,0% de quitosana.

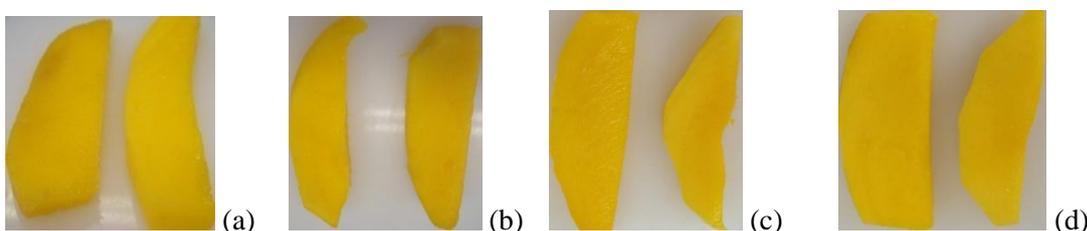


Figura 20. Amostras no 5º dia de armazenamento: (a) Controle, (b) biofilme a 0,25% de quitosana, (c) biofilme a 0,5% de quitosana e (d) biofilme a 1,0% de quitosana.

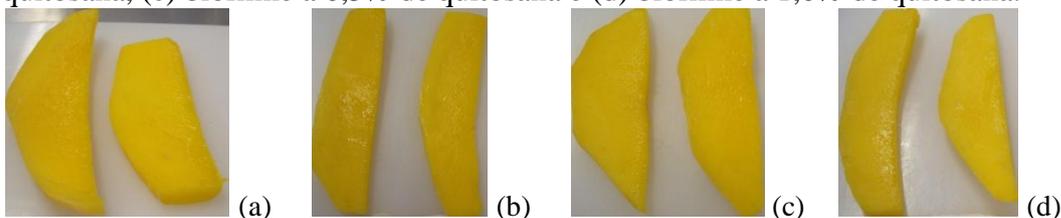


Figura 21 - Amostras no 10º dia de armazenamento: (a) Controle, (b) biofilme a 0,25% de quitosana, (c) biofilme a 0,5% de quitosana e (d) biofilme a 1,0% de quitosana.

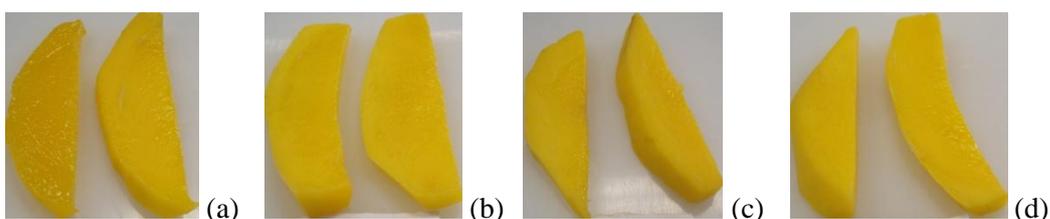


Figura 22. Amostras no 15º dia de armazenamento: (a) Controle, (b) biofilme a 0,25% de quitosana, (c) biofilme a 0,5% de quitosana e (d) biofilme a 1,0% de quitosana.

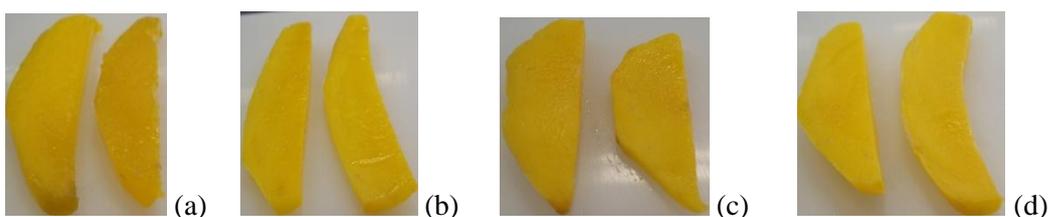


Figura 23. Amostras no 20º dia de armazenamento: (a) Controle, (b) biofilme a 0,25% de quitosana, (c) biofilme a 0,5% de quitosana e (d) biofilme a 1,0% de quitosana

4.5.2 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas das amostras analisadas apresentaram baixas contagens de bolores e leveduras (Tabela 11), confirmando as condições sanitárias satisfatórias da matéria-prima utilizada e do processamento pelo qual passaram as frutas, minimamente processadas.

Tabela 11. Valores médios de bolores e leveduras das fatias de mangas “Tommy” revestidas com diferentes concentrações de biofilme de quitosana à temperatura de refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) durante 10 dias de armazenamento.

Tratamentos	Armazenamento (dias)		
	0	5	10
Contagem de bolores e leveduras (UFC/g)			
Controle	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
0,25%	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
0,5%	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
1,0%	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$

Durante o armazenamento os resultados microbiológicos apresentaram valores constantes para contagem de bolores e leveduras $< 10^2$ UFC/g, estando, portanto, dentro dos padrões (máx. 10^2 UFC/g) estabelecidos pela legislação vigente (Brasil, 2001).

No Brasil, ainda não existe uma legislação específica para alimentos minimamente processados; seguem-se os padrões microbiológicos estabelecidos na Resolução RDC Nº12/01 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), para frutas e/ou hortaliças “frescas, *in natura*, preparadas (descascadas, selecionadas ou fracionadas), sanitizadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto” (SANTOS et al, 2010).

Frutas minimamente processadas reduzem a sua vida de prateleira, em função do maior manuseio a que são submetidas. Entretanto, considerando-se que a contagem microbiana foi mantida tanto no controle quanto nas amostras revestidas com o biofilme, não foi possível detectar ação antifúngica nos produtos em decorrência da aplicação do biofilme, conforme observado por Voilley (1998 apud VILLADIEGO *et al*, 2005) de que os revestimentos à base de quitosana aplicados em frutas induzem à produção da enzima quitinase, que é uma agente antifúngico natural. É provável que com um maior tempo de armazenagem outros resultados poderiam ser encontrados. Segundo Franco e Landgraf (2003 apud SANTOS et al, 2007), baixas contagens de bolores e leveduras são consideradas normais (não significativas) em alimentos frescos e congelados.

5 CONCLUSÕES

- A quitosana obtida a partir do camarão saburica e utilizada para elaboração dos biofilmes apresentou características de rendimento e concentração em cinzas e umidade, compatíveis com as especificações de mercado.

- Em relação ao pH, acidez titulável, sólidos solúveis e ácido ascórbico foi observado que no tempo “0” não houve diferenças significativas em nenhum dos parâmetros em função da concentração do biofilme aplicado, enquanto após 10 dias de armazenamento apenas o teores de sólidos solúveis das amostras revestidas com biofilme diferiram da amostra controle.

- Em relação à aparência global e cor do fruto os biofilmes de quitosana aplicados sobre as mangas minimamente processadas exerceram efeito significativo nos atributos sensoriais tendo a concentração de 1% de quitosana se mostrado a mais eficaz. Em relação ao brilho houve um decréscimo linear em todas as amostras, sendo que a amostra controle apresentou um menor valor para este atributo. Resultado semelhante foi verificado quando este parâmetro foi avaliado com o auxílio de um colorímetro.

- Durante os 10 dias de armazenagem avaliados não houve crescimento de bolores e leveduras no controle e nem nas amostras revestidas com biofilme.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, N.A., IQBAL, Z., MAQBOOL, M., HAFIZ I. A. Postharvest quality of mango (*mangifera indica* l.) Fruit as affected by chitosan coating. *Pakistan Journal of Botany*, v. 41, n.1, p. 343-357, 2009.

AHVENAINEN, R. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, v. 7, p. 179-187, 1996.

AIROLDI, C. A relevante potencialidade dos centros básicos nitrogenados disponíveis em polímeros inorgânicos e biopolímeros na remoção catiônica *Química Nova*, v. 31, n.1, p. 144-153, 2008.

ALVES, J. A., NASSUR, R. C. M. R., PIRES, C. R.F., ALCÂNTARA, E. M., GIANNONI, J. A., LIMA, L. C. O.; Cinética de degradação de vitamina c em mangas ‘palmer’ minimamente processadas armazenada em diferentes temperaturas. *Ciência agrotécnica*, Lavras, v. 34, n. 3, p. 714-721, maio/jun., 2010.

ANTONINO, N. A.; *Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundos da indústria pesqueira paraibana*. Dissertação (mestrado), Química. João Pessoa/PB, 2007.

APHA. 1992. American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Ed. 3, Washington.

ASSIS A.S., STAMFORD T. C. M., STAMFORD T. L. M., Bioconversão de resíduos de camarão *litopenaeus vannamei* (BOONER, 1931) para produção de biofilme de quitosana, *Revista Iberoamericana de Polímeros*, v. 9, n. 5, out., 2008.

ASSIS OBG, LEONI A. M. Filmes comestíveis de quitosana, *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, n. 30, p.33-38, 2003.

ASSIS, O.B.G.; ALVES,H.C. Metodologia Mínima para a Produção de Filmes Comestíveis de Quitosana e Avaliação Preliminar de seu Uso como Revestimento Protetor em Maças Cortadas. Comunicado técnico 49, *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*, ISSN 1517-4786, São Carlos, SP , 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). *Official methods of analysis*, v. 17, n. 2, 2000.

- BATISTA J.A., TANADA-PALMU P. S. GROSSO C. R. F. Efeito da adição de ácidos graxos em filmes á base de pectina, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, out.-dez. 2005
- BEUCHAT, L. R. Ecological factor influencing survival and growth of humans pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infections*, v. 4, p. 413-423, 2002.
- BOSCOLO, W. R., HAYASHI, C., MEURER, F. , FEIDEN, A., BOMBARDELLI, R. A.; Digestibilidade Aparente da Energia e Proteína das Farinhas de Resíduo da Filetagem da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e da Corvina (*Plagioscion squamosissimus*) e Farinha Integral do Camarão Canela (*Macrobrachium amazonicum*) para a Tilápia do Nilo. *Revista brasileira de Zootecnia*, v.33, n.1, p. 8-13, 2004.
- BOTREL D.A., SOARES N.F.F., GERALDINE R.M., PEREIRA R.M., FONTES E.A.F., Qualidade de alho (*Allium sativum*) minimamente processado envolvido com revestimento comestível antimicrobiano. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v.27, n.1, p. 32-38, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução RDC Anvisa/MS nº. 12, de 02 de janeiro de 2001.
- CAMPANA-FILHO, S. P.; BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. J.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. *Química Nova*, v. 30, n. 3, p. 644-650, 2007.
- CANELA, K. M. N. C.; GARCIA, R. B. Caracterização de quitosana por cromatografia de permeação em gel – influência do método de preparação e do solvente. *Química Nova*, v. 24, n.1, p.13-17, 2001.
- CHEN, S.; NUSSINOVITCH, A. The role of xanthan gum in traditional coatings of easy peelers. *Food Hydrocolloids*, v. 14, n. 4, p. 319-326, 2000.
- CHIEN P-J, SHEU, F., LIN HR, Quality assessment of low molecular weight chitosan coating on sliced red pitayas. *Journal of Food Engineering*, v. 79, p. 736-740, 2007.
- CHIEN P-J, SHEU, F., Yang, F-H. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, v.78, p.225-229, 2007.
- CIRILO, A. T. O.; SANTOS, M. C.; NUNES, M. L.; Elaboração de biscoitos tipo salgado utilizando farinha de camarão “saborica” (*macrobrachium olfersii*). *II Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos*, UFS-SE, Brasil, 2010.

- COELHO, P. A. & RAMOS-PORTO, M.. Camarões de água doce do Brasil: Distribuição geográfica. *Revista Brasileira de Zoologia*, São Paulo. v.2, n.6, p.405-410, 1985.
- COSTA SILVA H.S.R., SANTOS K.S.C.R., FERREIRA E.I. Quitosana: Derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. *Química Nova*, v.29, n.4, p.776-785, 2006.
- CRAVEIRO AA, CRAVEIRO AC, QUEIROZ DC “*Quitosana: A fibra do futuro*”. Editora Universitária, 1998.
- CRAVEIRO AA, CRAVEIRO AC, QUEIROZ DC, *Quitosana: A fibra do futuro*; Fortaleza (Brasil): PADETEC – PARQUE DE DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO, 1999, CAPÍTULO 3.
- DAMASCENO, K. S. F. da S. C. *Farinha dos resíduos do camarão Litopenaeus vannamei: caracterização e utilização na formulação de hambúrguer*. Dissertação (Doutorado), Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.
- DEVLEIGHIERE, F., VERMEULEN, A., DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, v.21, p.703–714, 2004.
- DOTTO, G. L.; GREVINELI, A. C.; OLIVEIRA, A.; PONS, G.; PINTO, L. A.A. *Uso de quitosana como filme microbiológico para o aumento da vida útil de mamões papaia*, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande- RS, 2008
- FAI, A. E. C., STAMFORD T. C. M., STAMFORD T. L. M. , Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos, *Revista Iberoamericana de Polímeros*. Quitosanos en alimentación ,v.9, n.5, jul. 2008.
- FAI, A. E.C., *Potencial do efeito antibacteriano in vitro de quitosana extraída de Mucor circinelloides UCP 050: Uma abordagem para uso em sistemas de conservação de alimentos*. Tese (Mestrado), Ciência de Alimentos. Recife, fev, 2008.
- FARBER, J. M. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology: a review. *Journal of Food Protection*, v. 54, n. 1, p. 58-70, 1991.
- FELLOWS, P.J. “*Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas*”. 2ª edição. Porto Alegre (Brasil): Artmed; p. 19-22, 2006

- GUEDES, P. A. *Utilização de biofilme comestível na conservação pós-colheita de manga, cv. Rosa*. Dissertação (Mestrado), Agronomia. Vitória da conquista/BA, Brasil, 2007.
- HENNIG, E. L. *Utilização de quitosana obtida de resíduos de camarão para avaliar a capacidade de adsorção de íons Fe^{3+}* . Dissertação (Mestrado), Química Tecnológica e Ambiental, Rio Grande-RS, Brasil, 2009.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ, Métodos físico-químicos p/ análise de alimentos, IV edição, Brasília, 2005.
- JÚNIOR, O. D.; Síntese, caracterização e avaliação da biocompatibilidade e bioadesão de nanopartículas de N-carboximetilquitosana em redes híbridas com ácido poliacrílico. *Tese (Mestrado), Ciências Farmacêuticas*, Itajaí, junho, 2009.
- KATO, Y., ONISHI, H., MACHIDA, Y. N-succinyl as a drug carrier: water insoluble and water-soluble conjugates. *Biomaterials*, v.25, p.907-915, 2004.
- KIM, S-K, RAJAPAKSE, N. Enzymatic productions and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydrate Polymers*, v.62, p.357-368, 2005.
- KIM, T.H., PARK, I.K., NAH, J.W., CHO, I Y.J., CHO C.S.; Galactosylated chitosan/DNA nanoparticles prepared using water-soluble chitosan as a gene carrier. *Biomaterials*, v.25, p.3783-3792, 2004.
- KUMAR, N. V. M.; A review of chitin and chitosan. *Reactive and Functional Polymers*, v. 46, p. 1–27, 2000.
- MANDVELL, P. M.; ACKLAND, M. R. Rapid detection of microbial growth in vegetable salads at chill and abuse temperatures. *Food Microbiology*, v. 3, p. 59-65, 1986.
- MARFIL, P. H. M.; SANOS, E. M. ; TELIS, V. R. N.; Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions. *Food Science and Technology*, v.41, n. 9, p. 1642-1647, nov, 2008.
- MARQUES, L. G.; *Liofilização de frutas tropicais*. Dissertação (Doutorado), Engenharia química, São Carlos, SP, 2008.
- MARTIN, N. S. P. P.; *Estudo das características de processamento da manga (mangifera indica l.) variedade Tommy atkins desidratada*. Dissertação (Mestrado), Tecnologia de Alimentos, Curitiba/PR, 2006.

- MARTINO, A.; **Immobilization of beta-glucosidase from a comercial preparation. Part 1. A comparative study of natural supports.** *Process Biochemistry*, New York, v.31, p.281-285, 1996.
- MARTINO, A.D., SITTINGER, M., RISBUD, M.V. Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials*, v.26, p.5983-5990, 2005.
- MOURA, C., MUSZINSKI, P., SCHMIDT, C., ALMEIDA, J., PINTO L.; Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: Avaliação do processo em escala piloto. *Vetor*, Rio Grande, v. 16, n.1, p. 37-45, 2006.
- MONTEIRO, O; NUNES, M. L, Obtenção de quitina e quitosana de resíduos do carangueijo-uçá (*Ucides cordatus*): otimização do processo. *Simpósio LATino Americano de Ciência de Alimentos- Avanços e perspectivas*, Campinas, 1995.
- MUZZARELLI, C., MUZZARELLI, R.A.A. Natural and artificial chitosan-inorganic composites. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v.92, p.89-94, 2002.
- OLIVEIRA, L.M., OLIVEIRA, P.A.P.L.V. Revisão: Principais agents antimicrobianos utilizados em embalagens plástica. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.7, n.2, p.161-165, 2004.
- OLIVEIRA, M. N.; *Aplicação de biofilmes em pré-colheita para o controle da injúria provocada pelo látex em frutos de Mangífera indica L.(Anacardiaceae)*. Tese (Mestrado), Agronomia, Rio Largo/AL, 2005.
- OLIVEIRA, B. S.; *Extração e Caracterização de Quitosa de resíduos de crustáceos e Aplicação como revestimento comestível em caju*. Dissertação (Mestrado), Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Sergipe, Brasil, 2010.
- PADETEC – Parque de Desenvolvimento Tecnológico. Universidade Federal do Ceará. Disponível em: <http://www.padetec.ufc.br> . Acessado em: 07 jan. 2010.
- PARRA, Y.; RAMÍREZ, M.A. Efecto de diferentes derivados de la quitina sobre el crecimiento *in vitro* del hongo *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Cultivos tropicales*, Cuba, v. 23, n. 2, p. 73-75, 2002.
- PFAFFENBACH, L. B.; *Uso de embalagens plásticas na conservação pós-colheita e qualidade de mangas 'haden 2h', 'palmer' e 'tommy atkins'*. Dissertação (Mestrado), Agricultura Tropical e Subtropical. Campinas/SP, julho, 2003.

- QIUPING, Z., WENSHUI, X. Effect of 1-methylcyclopropene and/or chitosan coating treatments on storage life and quality maintenance of Indian jujube fruit. *LWT- Food Science and Technology*, v.40, p.404-411, 2007.
- REGE, P. R.; GARMISE, R. J.; BLOCK, L. H. Spray-dried chitinosans Part I: preparation and characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 252, p. 41-51, 2003.
- RINAUDO M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science*, v.31, p.603-632, 2006.
- ROCHA, I. P.; Panorama da carcinicultura brasileira em 2007. Desempenho, desafios e oportunidades. *Panorama da Aqüicultura*, v.17, n. 104, p. 20, 2007.
- RODRIGUES, L. K., PEREIRA, L. M., FERRARI, C. C., SARANTÓPOULOS, C. I.G.L, HUBINGER, M. D.; Vida útil de fatias de manga armazenadas em embalagem com atmosfera modificada passiva. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 28 p. 271-278, dez. 2008.
- ROLLER, S., COVILL, N. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International Journal of Food Microbiology*, v.47, p.67-67, 1999.
- SANTOS, M. C.; CIRILO, A. T. O.; NUNES, M. L.; Rendimento e caracterização química da carne e da farinha do camarão “saborica” (*Macrobrachium jelskii*) salgado e pré-cozido. *II Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos*, UFS-SE, Brasil, 2010.
- SANTOS, J. E.; *Preparação, caracterização e estudos termoanalíticos de bases de Schiff biopoliméricas e seus complexos de cobre*. Dissertação (doutorado), Ciências. São Carlos-SP, 2004.
- SANTOS, A. B.; OZEKI, F. L.; OLIVEIRA, B. M. G.; KIMURA, M.; Precisão de escalas de mensuração utilizadas em testes de aceitação. *Revista Alimentos e Nutrição*, v.20, n.4, p. 633-639, out./dez. 2009.
- SANTOS, T. B. A., SILVA, N. JUNQUEIRA, V. C. A., PEREIRA, J. L. Microrganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 13, n. 2, p. 141-146, abr./jun. 2010.
- SILVA, A. V. C.; MENEZES, J. B. Caracterização físico-química da manga ‘tommy atkins’ submetida a aplicação de cloreto de cálcio pré-colheita e armazenamento refrigerado. *Scientia Agricola*, v.58, n.1, p.67-72, jan./mar, 2001.

- SILVA, A. F.; GODOY, L. C. R.; FRANCO, M. L. S.; ASSIS, M. F.; SOUZA, N. E., VISENTAINER, J. V.; Avaliação sensorial e composição proximal de camarões de água doce *macrobrachium rosenbergii* defumados. *Ciência animal brasileira*, v.11, n.4, p.770-774, out/dez. 2010.
- SILVEIRA, C.M. *Rendimento de Carne e Bioecologia do Camarão de Água Doce Macrobrachium olfersii (Wiegmann, 1836) (Crustacea, decapoda, Palaemonidae) do Rio Sahy, Mangaratiba/RJ*. Dissertação (Mestrado), Zootecnia, UFRJ, mar. 2002.
- SOARES, M. R.S.; *Biologia populacional de Macrobrachium jelskii (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) na Represa de Três Marias e no Rio São Francisco, MG, Brasil*. Dissertação (Mestrado) em Ciências. Seropédica/RJ, mar. 2008.
- SOTHORNVIT, R., RODSAMRAN, P.; Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. **Postharvest Biology and Technology** n.47, p. 407–415, 2008.
- STAMFORD, T. C. M. *Produção, caracterização e atuação anticariogênica da quitosana extraída de Cunninghamella elegans UCP 542*. Tese (doutorado), Ciências biológicas, Recife/PE, 2006.
- STONE, H.; SIDEL, J.; OLIVER, S.; WOOLDEY, A. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. *Food Technology*, v. 85, p.82-5, 1974.
- STREIT, F.; *Estudo do aproveitamento do bagaço de maçã para produção de quitosana fúngica*. Tese (Mestrado), Engenharia de Alimentos, Florianópolis/SC, 2004.
- TANADA-PALMU, P, FAKHOUR, I. F.M., GROSSO, C.R.F. “Filmes biodegradáveis: extensão da vida útil de frutas tropicais”, *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, v. 26, p.12, Brasília, 2002.
- THOMAS, C.; O’BEIRNE, D. Evaluation of the impact of short-term temperature abuse on the microbiology and shelf life of a model ready-to-use vegetable combination product **International Journal of Food Microbiology**, v. 59, p. 47-57, 2000.
- VANETTI, M. C. D. *Aspectos microbiológicos de produtos minimamente processados*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, 2005.
- VILLADIEGO, A. M. D.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J.; PUSCHMANN, R.; MINIM, V. P. R.; CRUZ, R., Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 52, n. 300, p. 221-244, 2005.

VIEIRA, I. M. ; *Bioecologia e pesca do camarão, Macrobrachium amazonicum (HELLER, 1862) no baixo rio Amazonas – AP. Tese (Mestrado), Gestão e política ambiental, Brasília-DF, 2003.*

WESKA, R. F.; MOURA, J. M.; BATISTA, L. M.; RIZZI, J.; PINTO, L. A. A. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, v. 80, p. 749-753, 2007.

WILEY, R. C. Introduction to minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: WILEY, R. C. Minimally processed refrigerated fruits & vegetables, New York: Chapman & Hall, 1994. p. 1-14.

YEN, M.-T, MAU, J.-L. Physico-chemical characterization of fungal chitosan from shiitake stipes. *LWT- Food Science and Technology*, v.40, p.472-479, 2007.

YOSHIZUKA K., LOU Z., INOUE K. Silver complexed microparticles for pesticide removal. *Reactive & Functional Polymers*, v.44, p.47-54, 2007.

ZHENG L.-Y, ZHU J.-F. Study of antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydrate Polymers*, v.54, p.527-530, 2003).

