

Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Utilização de revestimentos comestíveis
para conservação de carne ovina *in natura***

Cecília de Souza Cordeiro

Dissertação apresentada ao
programa de Pós-graduação em
Alimentos e Nutrição para obtenção
do título de Mestre em Alimentos e
Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos
Alimentos

Orientadora: Prof(a) Dra Renata
Tieko Nassu

Araraquara
2018

Utilização de revestimentos comestíveis para conservação de carne ovina *in natura*

Cecília de Souza Cordeiro

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos Alimentos

Orientadora: Prof(a) Dra Renata Tieko Nassu

Araraquara
2018

Ficha Catalográfica

Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

C794u Cordeiro, Cecília de Souza
Utilização de revestimentos comestíveis para conservação de carne ovina *in natura* / Cecília de Souza Cordeiro. – Araraquara, 2018
93 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Área de Concentração: Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Renata Tieko Nassu.

1. Zeínas. 2. Quitosana. 3. Estabilidade. 4. carne ovina. I. Nassu, Renata Tieko, orient. II. Título.

CAPES: 50700006



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Araraquara



CECÍLIA DE SOUZA CORDEIRO

"Utilização de revestimentos comestíveis para conservação de carne ovina in natura"

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Araraquara como requisito para a obtenção do título de Mestre(a) em Alimentos e Nutrição

Araraquara, 26/06/2018.

BANCA EXAMINADORA

RENATA TIEKO NASSU

RUBENS BERNARDES FILHO

DANIELA CARDOSO UMBELINO CAVALLINI

AGRADECIMENTOS

Agradeço à FAPESP pelo auxílio financeiro (2016/18232-3).

À minha orientadora Dra. Renata Tieko Nassu pela sua excelente orientação no decorrer deste projeto.

À Dra. Lucimara Aparecida Forato e ao Dr. Rubens Bernardes Filho, pesquisadores da Embrapa Instrumentação.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP.

Ao programa de Pós- graduação em Alimentos e Nutrição.

Ao CNPq e a Embrapa Pecuária Sudeste pelo auxílio financeiro.

À Embrapa Instrumentação.

À Secretaria de Pós-graduação por todo o suporte.

Aos colegas do Laboratório de Carnes da Embrapa Pecuária Sudeste.

Aos colegas dos Laboratórios de Preparo de Amostras e de Amostras Biológicas da Embrapa Instrumentação.

Resumo

No mercado brasileiro, a cadeia da ovinocultura vem ganhando destaque como uma atividade em expansão dentro do agronegócio. Durante a vida de prateleira da carne fresca podem ocorrer mudanças físico-químicas, microbiológicas e sensoriais indesejadas. Devido a este fato, para atender necessidades do consumidor, tais como praticidade, maior tempo de conservação, entre outros, é necessário prolongar a vida útil da carne, permitindo responder ao intervalo de tempo entre a produção e a distribuição dos produtos. Uma alternativa é o uso de filmes de revestimentos comestíveis, que podem ser aplicados como embalagens primárias. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de revestimentos à base de quitosana e zeína em carne ovina *in natura* embaladas à vácuo e armazenadas por um período de 57 dias em duas diferentes temperaturas. **Material e métodos:** O estudo foi dividido em dois experimentos. No experimento 1, foram testados sete revestimentos à base de zeínas com diferentes plastificantes em carne ovina embalada à vácuo. Foi estudado o efeito desses revestimentos na qualidade da carne ovina em suas características físico-químicas (pH, cor instrumental, capacidade de retenção de água, perda de peso por cocção, força de cisalhamento e oxidação lipídica) e também foi feito o teste de halo de inibição das soluções filmogênicas com o intuito de selecionar a melhor formulação para o segundo estudo. No experimento 2 foram avaliadas as características físico-químicas, microbiológicas (coliformes termotolerantes a 45°C, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp, clostrídios sulfito redutores e bactérias lácticas) e sensorial (análise descritiva) da carne com recobrimento comestível à base de zeínas e quitosana embaladas à vácuo no período de 57 dias, a duas diferentes temperaturas (0-2 °C e 4-6 °C). As amostras foram avaliadas periodicamente de 14 em 14 dias.

Resultado e discussão: Foi observado que na análise sensorial de diferença do controle não houve diferença entre a amostra controle e aquela com revestimento de quitosana, porém a diferença com a zeínas. Foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) nas análises de pH, cor instrumental e força de cisalhamento, porém não houve diferença para a capacidade de retenção de água ($p > 0,05$). Quanto a análise sensorial descritiva, houve diferença estatística somente para os atributos aroma estranho e sabor estranho e a carne revestida com zeínas receberam notas mais altas, ou seja, têm maior presença de aroma e sabor estranho. **Conclusão:** Na primeira parte do experimento com diferentes soluções filmogênicas a base de zeínas e óleo de pimenta rosa como um promissor plastificante no uso de revestimento. Apesar de ter apresentado sabor e aroma estranho, o revestimento a base de zeínas manteve melhor a cor avermelhada da carne e inibiu a oxidação lipídica. A quitosana influenciou positivamente na luminosidade da carne. Assim, os revestimentos de zeínas e quitosana estudados são eficazes para alguns parâmetros de qualidade da carne, ou seja, é viável a utilização desses revestimentos dependendo do atributo da carne que deseja ser conservado.

Palavras-chave: Zeínas, quitosana, estabilidade, carne ovina.

Abstract

In the Brazilian market, the sheep farming chain has been gaining prominence considered important as an expanding activity within agribusiness. During the shelf-life of fresh meat, physical, chemical, microbiological and sensory changes may occur. Due to this fact, in order to meet consumer needs, such as convenience, longer shelf life, among others, it is necessary to extend the shelf life of the meat, allowing to answer to the time between the production and the distribution of the products. An alternative is the use of edible coatings, which can be applied as primary packaging. **Objective:** The aim of this work was to evaluate the effect of chitosan and zein based coatings on vacuum- packed meat stored for a period of 57 days in two different temperatures. **Methods:** The study was divided into two experiments. In experiment 1, seven coatings zein based with different plasticizers on vacuum packed lamb meat were tested. The effect of these coatings on lamb meat quality on their physicochemical characteristics (pH, instrumental color, water retention capacity, cooking weight loss, shear force and lipid oxidation) was studied and also the halo test of inhibition of the filmogenic solutions in order to select the best formulation for the second study. In the experiment 2 the physical-chemical, microbiological characteristics (thermotolerant coliforms at 45 ° C, Coagulase positive *Staphylococcus*, *Salmonella spp*, sulfite clostridium and lactic acid bacteria) and sensorial (descriptive analysis) of the meat with edible coating based on zeins were evaluated. chitosan vacuum packed in 57 days at two different temperatures (0-2 ° C and 4-6 ° C). Samples were periodically evaluated every 14 days. **Results and discussion:** It was observed that in the sensory analysis of control difference there was no difference between the control sample and the one with chitosan coating, but the difference with zeins. There were significant differences ($p < 0.05$) in the pH, instrumental color and shear force analyzes, but there was no difference in the water retention capacity ($p > 0.05$). As for the descriptive sensorial analysis, there was statistical difference only for the attributes strange aroma and strange taste and the meat coated with zeins received higher notes, that is, they have a higher presence of aroma and strange taste. **Conclusion:** In the first part of the experiment with different filmogenic solutions the zein base the pink pepper oil as a promising plasticizer in the use of coating. In spite of having a strange flavor and aroma, the zein-based coating kept the reddish flesh better and inhibited lipid oxidation. Chitosan positively influenced the luminosity of the meat. Thus, the zein and chitosan coatings studied are effective for some meat quality parameters, in other words, it is feasible to use such coatings depending on the attribute of the meat that wishes to be preserved.

Key words: Edible coating, stability, quality, sheep meat.

Sumário

1. Introdução	10
2. Revisão de literatura	12
2.1. Mercado de carne	12
2.2. Vida de prateleira	13
2.3. Revestimento de filmes comestíveis	15
2.3.1. Quitosana	17
2.3.2. Zeínas	20
2.4. Plastificantes	22
3. Objetivo	23
4. Material e métodos	23
4.1. Estudo do efeito de diferentes plastificantes em revestimento a base de zeínas na qualidade da carne ovina	24
4.1.1. Preparação da matéria-prima	24
4.1.2. Preparação do revestimento à base de zeínas contendo diferentes plastificantes	24
4.1.3. Análises físico-químicas e microbiológicas	26
4.1.3.3. Capacidade de Retenção de Água (CRA)	27
4.1.3.4. Perda de peso por cocção	27
4.1.3.5. Força de cisalhamento	28
4.2. Estudo do efeito da utilização de revestimentos de zeínas e quitosana em carne ovina	29
4.2.1. Preparação das amostras	29
4.2.1.1. Preparação do revestimento à base de quitosana	30
4.2.2. Teste diferença do controle	31
4.3. Estudo da estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de carne ovina com revestimentos de zeínas e quitosanas armazenados a duas diferentes temperaturas	31
4.3.1. Análises físico-químicas	32
4.3.2. Análises Microbiológicas	32
4.3.3. Análise sensorial descritiva	33
4.3.4. Análise Estatística	35
5. Resultados e discussão	36
5.1. Estudo do efeito de diferentes plastificantes em revestimento a base de zeínas na qualidade da carne ovina	36
5.1.1. pH	37
5.1.2. Cor instrumental	38
5.1.3. Capacidade de Retenção de Água (CRA)	42
5.1.4. Força de cisalhamento	43
5.1.5. Perda de peso por cocção	45
5.1.6. Oxidação Lipídica	47
5.1.7. Halo de inibição	49
5.2. Conclusão	50
5.3. Estudo do efeito da utilização de revestimentos de zeínas e quitosana em carne ovina	50
5.3.1. Teste de diferença do controle	51

5.3.2. Estudo da estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial da carne ovina revestida com zeína ou quitosana a diferentes temperaturas.....	51
5.3.2.1 Análises físico-químicas.....	52
Oxidação lipídica.....	64
5.3.2.2. Análise sensorial descritiva.....	66
5.3.2.3. Análises Microbiológicas.....	73
6. Conclusão.....	75
7. Referências.....	77

1. Introdução

No mercado brasileiro, a cadeia da ovinocultura vem ganhando destaque como uma atividade em expansão dentro do agronegócio. Como a carne ovina possui um alto valor de mercado quando comparada aos demais (15kg de ovino pode custar até R\$195,00, enquanto 15kg do boi gordo pode custar até R\$142,00), sua produção se torna uma estratégia de desenvolvimento rural e geração de renda. Para os pecuaristas, a criação de ovinos é muito mais rentável que o gado, pois o custo de se manter uma vaca no rebanho é alto, pois pode-se manter 10 ovelhas no mesmo espaço em que é criado uma vaca, sendo que na maioria das vezes o preço da arroba não chega a compensar o investimento (1).

Em contrapartida, o consumo de carne ovina ainda é limitado em comparação a outros produtos de origem animal. O consumo anual *per capita* de carne ovina no país é ao redor de 700 gramas, contra um consumo anual per capita de 39 kg de carne bovina, 44,5 kg carne de frango e 13 kg de carne suína (2).

O aspecto da carne fresca afeta diretamente a decisão de compra do produto. As mudanças mais perceptíveis para o consumidor são as que podem alterar as propriedades físicas da carne, relacionadas com o frescor, influenciando diretamente sua aquisição, sendo que a cor é a primeira característica a ser observada pelo consumidor na compra. As características sensoriais mais importantes da carne ovina são: cor, textura (maciez e suculência), aroma e sabor (3).

A necessidade de prolongar a vida útil da carne fresca existe não apenas devido a motivos econômicos, mas também por mudanças ocorridas no perfil do mercado e do consumidor. Uma maior vida útil permite responder ao intervalo de tempo entre a produção e a distribuição dos produtos para atender a mercados mais distantes, reduzir perdas e compensar flutuações da demanda. Sendo assim, a embalagem é um importante fator que influencia a qualidade e a durabilidade de carnes frescas, pois altera o ambiente ao redor do produto, criando condições que retardam as reações de deterioração (4).

Dentre diversas possibilidades, uma alternativa para aumentar a vida de prateleira em carnes é o uso de revestimentos comestíveis, que podem ser aplicados como embalagens primárias (5). Alguns estudos relatam a utilização destes produtos em carne: bovina (5), suína (6) e de frango (7).

A carne de cordeiro, animal jovem, é uma excelente fonte de proteínas, contendo aminoácidos essenciais, baixa concentração de lipídios e de gordura saturada. É caracterizada por ser mais macia e rosada, textura lisa, consistência firme e quantidade de gordura adequada, sendo que esta gordura é rica em ácidos graxos monoinsaturados. Tendo em vista que estudos da aplicação de revestimentos comestíveis para carnes ovinas são escassos, este trabalho avaliou as propriedades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de carne ovina embalada a vácuo e revestida com dois tipos de revestimento, quitosana ou zeínas, sob diferentes condições de armazenamento.

2. Revisão de literatura

2.1. Mercado de carne

Em 2014 o rebanho mundial de ovinos era de 1,2 bilhão de animais(8). Nos últimos cinco anos, a produção de carne ovina no mundo teve uma taxa de crescimento de 0,6% ao ano, inferior ao crescimento do rebanho de bovino que cresceu a taxas de 1,5% ao ano (9).

O grande desafio da ovinocultura mundial está buscar forma de elevar o consumo do produto, principalmente em grandes centros, o que implica em aumento de demanda por carne no mercado internacional. Qualquer incremento de consumo, por exemplo, nos Estados Unidos e União Europeia, beneficiará os países produtores de carne ovina de qualidade, inclusive o Brasil (10). O consumo médio mundial de carne ovina não passa de 2 kg *per capita* por ano, entretanto países como Mongólia, Nova Zelândia e Islândia, segundo FAO (11), apresentam os maiores consumos de carne ovina, com 39 kg, 24 kg e 22 kg *per capita* por ano respectivamente.

O Brasil é um grande produtor mundial de proteína animal e tem no mercado interno o principal destino de sua produção, conforme dados do Ministério da Agricultura. No ano de 2010, por exemplo, 75% da produção brasileira de carnes (bovina, suína e de aves), estimada em 24,5 milhões de toneladas, foram consumidas internamente no país, o que equivale a aproximadamente 18,38 milhões toneladas. As carnes ovina e caprina, assim como a produção de leite e seus derivados, são consumidas majoritariamente no mercado interno brasileiro (12).

De 1990 a 2007, a produção de carne ovina brasileira oscilou em torno de 78 mil toneladas, apesar da diminuição de mais de 20% ocorrida no rebanho nacional. Entre o período de 1997 a 2008 a importação de carne ovina passou de um valor de US\$ 6 milhões para mais de US\$ 23 milhões. Mesmo com este crescimento, a carne importada significa apenas 9% do consumo formal brasileiro, de 86 mil toneladas anuais (13).

2.2. Vida de prateleira

De acordo com Wright e Taub (14) a vida de prateleira de produtos alimentícios é o período em que produtos com alta qualidade inicial podem ser armazenados e permanecem apropriados para consumo. Um produto de qualidade é aquele que atende de forma segura às necessidades do cliente (15).

O estudo de vida de prateleira de produtos alimentícios consiste em submeter várias amostras a uma série de testes e examiná-las durante um período de tempo até o limite de aceitação (16). Portanto, as alterações na qualidade do produto e o tempo que ele leva para se deteriorar são observados até o limite que o torna impróprio para o consumo. Com isso, é possível também identificar os atributos que se alteram e a definição quantitativa desses atributos é uma forma de monitorar a perda de qualidade durante o armazenamento (17).

No caso de carne ovina, sua qualidade pode ser definida pelo aspecto sanitário, cor da carne e gordura, a quantidade de gordura intermuscular (marmoreio), associada aos atributos sensoriais, aroma, maciez, sabor

entres outros. A qualidade é influenciada pelos fatores intrínsecos (idade do animal, sexo, raça, nutrição, sistema de terminação pasto ou confinamento e peso de abate) assim como pelos fatores extrínsecos (condições de abate, temperatura de armazenamento, métodos de conservação) (18).

Para determinação do tempo de vida em prateleira os principais atributos de interesse são o crescimento microbiano, aspectos físico-químicos como cor, pH, textura, capacidade de retenção de água (CRA), oxidação lipídica e proteica, assim como as características sensoriais. Estes fatores, conseqüentemente, irão influenciar na aceitação do consumidor de carne fresca (19, 20).

A carne possui uma elevada atividade de água, pH favorável ao crescimento microbiano e é rica em proteínas, minerais e vitaminas. Sendo assim, é um produto suscetível ao crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes (5). Dentre os fatores não microbiológicos envolvidos na deterioração da carne durante o armazenamento refrigerado, a oxidação lipídica se destaca, pois induz alterações dos lipídios do músculo, afetando as propriedades sensoriais e nutricionais das carnes e derivados, devido a inúmeras reações em cadeia favorecidas pela luz e oxigênio (21). Na oxidação lipídica ocorre degradação de ácidos graxos insaturados em aldeídos, cetonas, álcoois, ácidos e hidrocarbonetos (22), implicando no processo de rancificação que causa sabores indesejáveis na carne (23).

Quanto aos aspectos sensoriais da carne, Thompson (24) considera a maciez a característica mais importante. A maciez é determinada pela quantidade e solubilidade do tecido conjuntivo, comprimento do sarcômero,

taxa de proteólise durante a maturação e metabolismo *post-mortem* (25). A cor da carne é dependente da concentração e do estado químico dos pigmentos da carne, principalmente mioglobina e hemoglobina, e sobre as características físicas da carne (23). A cor do músculo depende da quantidade de oxidação ou redução da mioglobina e características superficiais da carne relacionados ao seu pH final (26).

Os fatores que determinam a qualidade da carne também irão determinar os preços do produto no mercado nacional e internacional, e esses fatores podem influenciar as políticas de importação e exportação de cada país, as barreiras sanitárias, os regulamentos e tarifas (23). Portanto, o investimento em técnicas de melhoria das características da carne irá agregar valor ao produto.

2.3. Revestimento de filmes comestíveis

A demanda por produtos *in natura* contribuiu para o desenvolvimento de novos sistemas de embalagem, capazes de assegurar vida útil de 28 a 35 dias aos produtos cárneos frescos. A embalagem interfere na qualidade e durabilidade das carnes devido à alteração da atmosfera ou ambiente ao redor do produto, podendo alterar a cor, o tipo e extensão da deterioração microbiológica e a velocidade de oxidação dos seus componentes (27). No Brasil, assim como em outros países, a embalagem à vácuo é comumente utilizada para comercializar cortes de carnes frescas. Entretanto, quando a carne embalada à vácuo tem uma cor vermelho-púrpura, devido à formação

de desoximioglobina, o que torna o produto menos atraente para os consumidores (28).

Uma alternativa possível para este problema é a utilização de revestimentos comestíveis, filmes que podem ser aplicados como uma embalagem primária para estender a vida de prateleira de carnes frescas (29). Em alimentos, os revestimentos comestíveis são utilizados como conservantes e também embalagens ativas. Estas últimas têm despertado interesse do segmento de embalagens, o aumento da demanda por alimentos minimamente processados vem criando grandes oportunidades para o desenvolvimento de tecnologias específicas que atendam as exigências dos consumidores (30).

Revestimentos podem ser elaborados com diferentes fontes naturais, como polissacarídeos, proteínas, lipídeos, dentre outros, devendo ser observado suas características e a melhor aplicabilidade para cada tipo de alimento (31). Na indústria de carnes, os revestimentos com base protéica, de carboidratos e polissacarídeos têm sido estudados com o objetivo de evitar a desidratação da superfície de carnes frescas, reduzir as populações microbianas e preservar a textura, cor e sabor de carne em diferentes espécies animais (32).

Os filmes e os revestimentos comestíveis são capazes de aumentar a vida útil de alimentos (33). Assim, eles têm sido desenvolvidos com o objetivo de diminuir a perda de umidade, reduzir a oxidação lipídica e a descoloração, melhorar a aparência de alimentos em embalagens individualizadas, eliminar exsudação, conter aromas, carrear aditivos, como

antimicrobianos e antioxidantes (5). A utilização de revestimentos comestíveis está relacionada com a sua capacidade de agir como um adjunto para preservar a qualidade, estendendo a vida de prateleira e possibilitando a economia com materiais de embalagem final (34).

As pesquisas em relação às embalagens têm sido enfocadas em filmes e revestimentos comestíveis à base de biopolímeros, como proteínas (zeínas), polissacarídeos (quitosanas) e lipídios, que podem ser completamente biodegradados em compostos naturais, dentro de um período consideravelmente curto de tempo (5). Dentre os revestimentos comestíveis, destacamos a quitosana e zeínas mais detalhadamente a seguir.

2.3.1. Quitosana

A quitosana é extraída do exoesqueleto de crustáceos como lagostas, caranguejos e camarões. O processo para a sua obtenção é realizado a partir da desacetilação da quitina com álcalis, podendo também estar naturalmente presente em alguns fungos, como aqueles pertencentes aos gêneros *Mucor* e *Zygomycetes* (35).

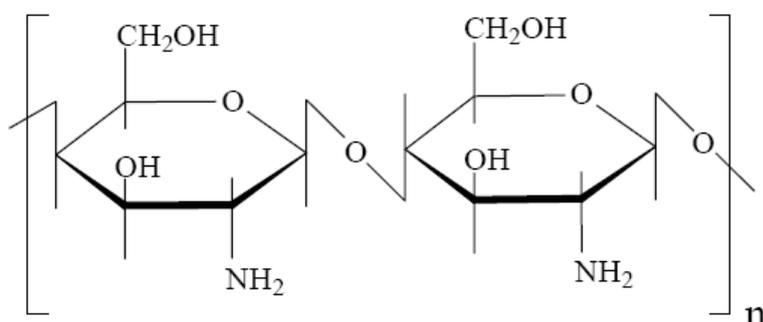


Figura 1. Estrutura química da quitosana
Fonte: SANTOS, 2004.

A quitosana é um polissacarídeo de cadeia linear [poly-(b-1/4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose], podendo ser obtido pela desacetilação da quitina e diferencia-se desta, em termos de proporção de grupos aminos e quanto à solubilidade, sendo o segundo polissacarídeo mais abundante encontrado na natureza, depois da celulose (36). Possui enorme capacidade de reagir com várias moléculas, por apresentar no grupos amina elétrons livres, tornando o biopolímero com maior disponibilidade de grupos que conseguem fazer ligações, podendo ser empregada tanto nas formas de pó, esferas ou filmes (37). Existem dois processos viáveis de desacetilação, sendo eles químicos ou enzimáticos. Porém, devido aos custos elevados e baixa produtividade dos processos enzimáticos, não são empregados em escala industrial. Os processos químicos, considerados os mais viáveis em escala industrial, podem ser realizados pela via homogênea, realizada com álcali-quitina; ou heterogênea, sendo esta a mais extensivamente usada e estudada (38).

A quitosana pode ser considerada uma matéria prima de fácil acesso, em grandes quantidades e a preços relativamente baixos, uma vez que as carapaças de crustáceos são resíduos abundantes e rejeitados pela indústria pesqueira, que em muitos casos, as consideram como poluentes (39). As principais fontes comerciais da quitina são os resíduos de camarão, siri e lagosta. O camarão apresenta na sua composição cerca de 5 a 7% de quitina, e o siri, de 15 a 20% (40). Desta forma, trata-se de um material com grande potencial para uso na indústria alimentícia. Além disso, é considerada não-tóxica, biodegradável, biofuncional, biocompatível e,

conforme relatado por diversos pesquisadores, tem forte ação antimicrobiana e antifúngica (41,42). É um polissacarídeo solúvel em meio ácido diluído, formando um polímero catiônico, com a protonação (adição de prótons) do grupo amino (NH_3^+), que confere propriedades especiais diferenciadas em relação às fibras vegetais, como a celulose (43).

Existe uma grande variedade de trabalhos sobre as propriedades, características e aplicações da quitosana, que são utilizadas em diversas áreas, como medicina, agricultura, biotecnologia, indústria de cosméticos, produtos alimentícios e como adsorvente na remoção de corantes e espécies metálicas (44).

Rinaudo e Domard (45) enumeraram algumas das principais áreas de aplicação da quitosana, sendo elas: agricultura (mecanismos defensivos e adubo para plantas); tratamento de água (floculante para clarificação); remoção de íons metálicos (polímero ecológico e redução de odores); indústria alimentícia (fibras dietéticas, redutor de colesterol); conservante para molhos (fungicida e bactericida, recobrimento de frutas); indústria de cosméticos (esfoliante para a pele, tratamento de acne, hidratante capilar, creme dental) e biofarmacêutica (imunológico, antitumoral, hemostático e anticoagulante). Todavia, sua maior aplicação é na área biomédica (suturas cirúrgicas, implantes dentários, reconstituição óssea, lentes de contato, liberação controlada de drogas em animais e humanos e encapsulamento de materiais).

A atividade antimicrobiana é uma característica da quitina e da quitosana que as diferem dos demais polissacarídeos. Alguns pesquisadores

apontam que a quitina e quitosana inibem o crescimento de microrganismos, como, *S. aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, coliformes, *Cândida* (46), *E. coli*, *Fusarium* (47) dentre outros. A atividade antimicrobiana pode ser explicada pelos grupos amínicos da quitosana que quando em contato com os fluidos fisiológicos, possivelmente são protonados e se ligam a grupos aniônicos desses microrganismos. Esse processo resulta na aglutinação das células microbianas e assim, a inibição do crescimento (47). Em contrapartida, estudos mais recentes associam a atividade antimicrobiana às propriedades físico-químicas do polímero e às características da membrana do microrganismo. A membrana de *S. aureus* foi enfraquecida quando em contato com a quitosana (48).

2.3.2. Zeínas

O milho é cultivado e consumido a nível mundial e ocupa uma posição de destaque entre as atividades agropecuárias do Brasil. Porém, ainda há um baixo consumo dos grãos de milho na alimentação humana, sendo 70% da produção destinada ao consumo animal. Um dos motivos é o fato das proteínas do milho não apresentarem um balanço nutricional adequado por serem pobres em aminoácidos lisina e triptofano, que são essenciais à nutrição. O principal grupo proteico do milho são as zeínas, que está contida no endosperma do grão. A produção comercial dessa proteína é feita a partir do subproduto da moagem úmida, o glúten do milho (49,50).

As zeínas são proteínas de reserva compostas por vários polipeptídeos que representam mais de 50% da massa total das proteínas

presentes no endosperma do milho (51). Zeínas são compostas de zeínas α , γ , β e δ , que são classificadas acordo com sua massa relativa (M_r) e solubilidade. As zeínas α estão presentes em maior quantidade, representando aproximadamente 80% de todas as zeínas. Estas são insolúveis em água por serem ricas em resíduos de aminoácidos apolares (leucina, prolina, alanina, glicina, valina e outros), porém são solúveis em meios alcoólicos (52). Devido as características das zeínas, seu processo de extração é realizado em solução aquosa de álcool que deve ser removido ao final por evaporação (51).

As zeínas são consideradas de alto grau de polimerização e possui propriedades isolantes, destacando-se sua aplicação na elaboração de revestimentos para conservação de alimentos perecíveis e microcápsulas na indústria farmacêutica (51). A formação de novos materiais biodegradáveis substitui o uso de plásticos oriundos de polímeros sintéticos, derivados do petróleo, prejudiciais ao meio ambiente por resistirem à degradação (53).

Os filmes produzidos a partir da diluição de zeínas puras apresentam também caráter hidrofóbico, o que pode ser potencialmente interessante para aplicações como revestimentos ou barreiras à umidade e ao vapor de água. De um modo geral, filmes à base de zeínas apresentam também uma boa barreira ao transporte de oxigênio, dióxido de carbono e demais compostos voláteis (51).

Revestimentos de zeínas são usados como barreiras de oxigênio, lipídios e umidade para nozes, doces, confeitos e outros alimentos e para proteção em comprimidos farmacêuticos (54).

2.4. Plastificantes

Plastificantes são importantes na formação dos filmes e revestimentos, pois quando adicionados a outro material tem a capacidade de mudar propriedades físicas e ou mecânicas devido as suas características (55).

Plastificantes são compostos orgânicos adicionados a materiais poliméricos, tendo alto ponto de fusão e baixa volatibilidade (56). Segundo Resmuñan López e Bodmeier (57) a maioria dos plastificantes tem caráter hidrofílico e são facilmente acoplados entre as cadeias poliméricas devido à sua habilidade em reduzir a formação de ligações de hidrogênio.

As proteínas formam filmes frágeis e com baixa flexibilidade, tomando-se quebradiços principalmente com alterações de umidade e temperatura. Para melhorar estas formulações pode-se adicionar plastificantes como ácidos graxos, glicerol, propileno-glicol, álcoois polihídricos, assim gerando um material com maior elasticidade e flexibilidade (58).

Garcia et al. (59) observou que a adição de plastificantes, como o sorbitol e glicerol, a filmes e revestimentos à base de amido de milho e de batata, melhoram as propriedades de barreira ao vapor de água. Em outro estudo, a adição de óleo de girassol aos revestimentos à base de amido de milho, com diferente conteúdo de amilose, também diminuiu expressivamente a permeabilidade ao vapor de água (60). Arvanitoyannis e Billiaderis (61) estudaram o efeito dos plastificantes glicerol, sorbitol e xilose sobre as propriedades mecânicas de filmes à base de amido e metilcelulose e observaram que, à medida que aumenta a concentração de plastificantes na composição do filme, diminui a força de tensão e aumenta a porcentagem de

alongamento. Em filmes à base de proteína isolada de soro, os plastificantes glicerol e sorbitol também alteraram as propriedades mecânicas do filme.

3. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de revestimentos à base de quitosana ou zeínas na conservação de carne ovina *in natura* embalada à vácuo e armazenada por um período de 60 dias em duas diferentes temperaturas, avaliando parâmetros físico-químicos (cor, CRA, perda de peso por cocção, força de cisalhamento e oxidação lipídica), microbiológicos (coliformes termotolerantes a 45°C, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp, clostrídios sulfito redutores e bactérias lácticas) e sensoriais da carne.

4. Material e métodos

O estudo foi dividido em dois experimentos. No experimento 1, foram testados sete revestimentos à base de zeínas com diferentes plastificantes em carne ovina embalada à vácuo. Foi estudado o efeito desses revestimentos na qualidade da carne ovina em suas características físico-químicas e também foi feito o teste de halo de inibição das soluções filmogênicas com o objetivo de selecionar a melhor formulação para o segundo estudo. No experimento 2 foram avaliadas as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais da carne com recobrimento comestível à base de zeínas e quitosana embaladas à vácuo no decorrer do tempo, a duas diferentes faixas de temperaturas (0-2 °C e 4-6 °C).

A seguir descrevemos a matéria prima a ser utilizada bem como o preparo do filme, revestimento e análises do primeiro experimento.

4.1. Estudo do efeito de diferentes plastificantes em revestimento a base de zeínas na qualidade da carne ovina

Foi necessário testar diferentes revestimentos de zeínas contendo diferentes tipos de plastificantes para obter uma formulação adequada para revestir a carne ovina. Para o revestimento de quitosana, a formulação utilizada foi definida por Alves (62) em um estudo de avaliação do efeito de revestimento de quitosana na conservação de carne bovina resfriada e embalada a vácuo.

4.1.1. Preparação da matéria-prima

Para este estudo foi utilizado o músculo *longissimus* de ovinos machos inteiros, do mesmo grupo genético, que recebem a mesma dieta e foram abatidos na mesma idade, arraçoados na Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - SP. Após o abate em frigorífico comercial as carcaças foram identificadas e armazenadas em câmaras frias por 24 horas. As amostras foram transportadas para o Laboratório de Carnes da Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - SP onde foi feito o estudo. O porcionamento da carne foi feito em corte transversal para obtenção de bifes de 2,5 cm de espessura.

4.1.2. Preparação do revestimento à base de zeínas contendo diferentes plastificantes

Foram preparadas sete formulações de soluções filmogênicas à base de zeínas (4%) com diferentes plastificantes conforme apresentado na Tabela 1. As substâncias foram solubilizadas em etanol 70%. As misturas foram

homogeneizadas em béquer, com auxílio de um agitador magnético, a 50°C por 2h.

Tabela 1. Descrição das formulações à base de zeínas.

Formulações	Zeínas(%)	Azeite(%)	Ácido oleico(%)	Óleo de Alecrim(%)	Óleo de pimenta rosa(%)	Óleo de coco(%)
AO	4	-	0,25	-	-	-
PIM	4	-	-	-	0,5	-
AL	4	-	-	0,5	-	-
AZ	4	1	-	-	-	-
COCO	4	-	-	-	-	1
AZAL	4	0,5	-	0,5	-	-
AZPIM	4	0,5	-	-	0,5	-

AO= ácido oleico; PIM= óleo de pimenta rosa; AL= óleo de alecrim; AZ= azeite; COCO= óleo de coco; AZAL= azeite + óleo de alecrim; AZPIM= azeite + óleo de pimenta rosa.

Para aplicação do revestimento, foi utilizada a técnica de imersão na solução filmogênica para polimerização dos revestimentos no bife, como descrito por Cardoso et al. (29). Os bifes foram imersos por 5 segundos na solução filmogênica e em seguida colocados em grades por 30 minutos em câmara climática tipo BOD a 4-6°C até a secagem parcial do revestimento de modo que ficassem homogêneos. Após esse período os bifes foram embalados à vácuo em sacos termoencolhíveis em equipamento próprio para este fim (Selovac, 300B).

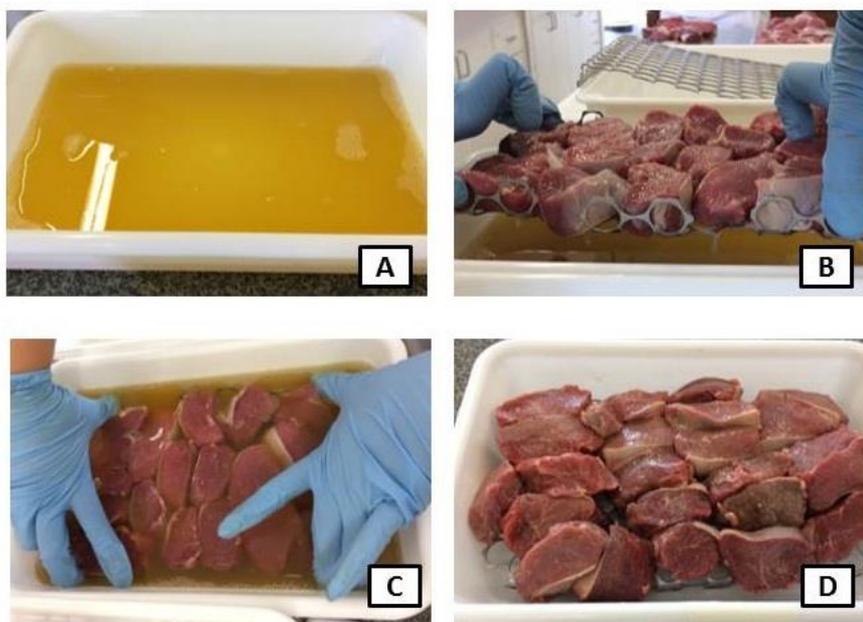


Figura 2. Processo de aplicação da solução filmogênica sendo (A) solução filmogênica a base de zeínas; (B e C) aplicação da solução filmogênica por imersão; (D) bifes em grades após a aplicação para secagem da solução

4.1.3. Análises físico-químicas e microbiológicas

As amostras foram armazenadas a 4-6°C em câmara climática tipo BOD junto a uma amostra controle sem revestimento. Os bifes foram avaliados por um período de 36 dias, onde foram coletadas as amostras nos tempos 1, 8, 15, 22, 29 e 36 dias para análises físico-químicas, descritas a seguir.

4.1.3.1. Determinação do pH

O pH foi determinado realizando medições em lugares diferentes da porção do músculo, utilizando para isto um medidor digital marca Testo®, calibrado com soluções tampão de pH = 4 e 7. Foram conduzidas cinco leituras por amostra.

4.1.3.2. Cor instrumental

A cor instrumental foi medida sobre a superfície da carne após a abertura das embalagens. Foram realizadas as medidas de cor da carne em cada amostra, com um colorímetro portátil, medindo as variações dentro do espaço de cor CIELab, com avaliação da luminosidade (L^*), da intensidade da cor vermelha (a^*) e da intensidade da cor amarela (b^*), segundo sugerido por Ramos e Gomide (28) para carne *in natura*. Trinta minutos antes das determinações, foi realizado um corte transversal ao músculo em cada bife, para exposição da mioglobina ao oxigênio.

4.1.3.3. Capacidade de Retenção de Água (CRA)

Na determinação da capacidade de retenção de água, foi utilizada a metodologia descrita por Hamm (63), na qual amostras de carne de 2g foram colocadas no sentido transversal das fibras sobre papel filtro qualitativo Whatmann nº 1, com 11,0 cm de diâmetro, entre duas placas acrílicas e sobre estas foi colocado peso de 10 kg por 5 minutos. Posteriormente, as amostras foram pesadas e, por diferença, calculou-se a quantidade de água perdida. O valor de CRA de cada amostra foi calculado pela fórmula:

$$CRA(\%) = \frac{\text{peso da amostra prensada}}{\text{peso da amostra não prensada}} \times 100$$

4.1.3.4. Perda de peso por cocção (PPC)

Os bifes *in natura* foram pesados em balança semi-analítica e acondicionados em grelhas e levados a um forno combinado Tedesco, pré-

aquecido a 170° C. Em cada bife foi introduzido um termopar conectado a um computador munido de software específico que mostra a variação da temperatura, até alcançar 70° C no centro geométrico. Após a retirada dos bifos do forno as amostras foram resfriadas e foi realizada uma nova pesagem. O valor foi calculado segundo a fórmula

$$PPC(\%) = \frac{(\text{peso inicial} - \text{peso final})}{\text{peso inicial}} \times 100$$

Na análise de PPC obteve-se somente um valor da porcentagem de perda de peso por cocção para cada tratamento, dessa forma não há valores médios para PPC.

4.1.3.5. Força de cisalhamento

Após a cocção, as mesmas amostras utilizadas para a análise de perda por cocção foram levadas à geladeira a 5° C, por 24 horas. Depois deste período, foram retiradas sub amostras das amostras cortando-as em cubos de 1cm de lado, para cálculo da área em cm² e submetendo-as ao corte no sentido transversal das fibras musculares, para a realização da força de cisalhamento com um texturômetro da marca *TA.XT plus*. No texturômetro, as sub-amostras foram colocadas com as fibras do músculo perpendiculares à lâmina Warner-Bratzler, e o equipamento conectado a um computador munido de software específico. Para a obtenção dos resultados da força de cisalhamento, os valores obtidos foram divididos pela área, obtendo-se assim os valores reais da força de cisalhamento de cada sub-amostra. Foram retiradas entre 9 a 12 sub-amostras.

4.1.3.6. Oxidação Lipídica

A determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foi realizada com modificações do método de Vyncke (64,65) modificada Sørensen e Jørgensen (66), utilizando o ácido tiobarbitúrico na concentração de 0,04M.

4.1.3.7. Halo de inibição

Nas placas contendo ágar Mueller Hinton foi feito o espalhamento de superfície de 100µl da cultura (*Escherichia coli* e *Stafilococcus aureus*) a 01 a 05 x 10⁶ UFC/mL. Foram feito poços de 12mm de diâmetro com uma ponteira estéril no meio e adicionado em triplicata 50µl das formulações em cada poço. As placas foram incubadas por 24h a 37°C, sendo realizada após esse período a leitura e interpretação dos resultados (67).

4.2. Estudo do efeito da utilização de revestimentos de zeínas e quitosana em carne ovina

4.2.1. Preparação das amostras

Foi utilizado o músculo *longissimus* de ovinos machos inteiros, do mesmo grupo genético, que receberam a mesma dieta e foram abatidos na mesma idade de um abatedouro da cidade de São Carlos-SP. As amostras foram transportadas para o Laboratório de Carnes da Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - SP onde foi feito o estudo. O porcionamento da carne foi feito em corte transversal para obtenção de bifes de 2,5 cm de

espessura. As amostras de carne ovina foram tratadas ou não com o revestimento de quitosana e zeínas, sendo posteriormente acondicionadas em embalagens termoencolhíveis (taxa de permeabilidade: $2000 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} 24 \text{ h}^{-1}$) e seladas a vácuo em equipamento apropriado (Selovac, 300B).

4.2.1.1. Preparação do revestimento à base de quitosana

Foi preparada uma solução filmogênica, com 1% m/V quitosana e 0,5% m/V de glicerol, solubilizados em ácido láctico a 1% (V/V). A mistura foi homogeneizada em béquer, com auxílio de um agitador magnético, durante 12h à temperatura ambiente, segundo Alves (62). Para aplicação do filme, foi utilizada a técnica de imersão na solução filmogênica para polimerização dos filmes no bife, segundo Cardoso et al. (29). Os bifes foram imersos por 5 segundos na solução filmogênica e em seguida colocados em grades por 30 minutos a 4-6°C até a secagem parcial do revestimento de modo que fiquem homogêneos. Após esse período os bifes foram embalados à vácuo em sacos termoencolhíveis e foi utilizada uma máquina seladora (Selovac, 300B) para fechar as embalagens.

4.2.1.2. Preparação do revestimento à base de zeínas

Foi preparada uma solução filmogênica à base de zeínas com óleo de pimenta rosa como descrito no item 4.1.2. do experimento 1, com 4% de zeínas solubilizados em etanol 70%. A mistura foi homogeneizada em béquer, com auxílio de um agitador magnético à 50°C por 2h. A aplicação

do revestimento de zeínas foi feita da mesma forma que a aplicação de revestimento de quitosana descrita no item 4.2.1.1.

4.2.2. Teste diferença do controle

O teste de diferença do controle foi realizado com as amostras de carne ovina contendo revestimento de zeínas e quitosana após 24h do revestimento da carne, sendo que as amostras foram comparadas com um controle, sem revestimento. Foi utilizada uma escala de diferença (0 = Nenhuma Diferença; 1 = Diferença muito ligeira; 2 = Diferença ligeira/moderada; 3 = Diferença moderada; 4 = Diferença moderada/grande; 5= Diferença grande; 6= Diferença muito grande), conforme o anexo II. Vinte sete provadores realizaram o teste em duas sessões, totalizando 54 respostas. Os resultados foram analisados por Análise de Variância e em seguida o teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). Assim, foi possível verificar se existe diferença significativa entre as amostras revestidas com os dois filmes e o controle, sem revestimento.

4.3. Estudo da estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de carne ovina com revestimentos de zeínas e quitosanas armazenados a duas diferentes temperaturas

As amostras com e sem revestimentos foram armazenadas em duas diferentes faixas de temperatura, de 0-2°C (superresfriamento) e 4-6°C (temperatura de refrigeração convencional). Os bifes foram avaliados por um

período de 57 dias e foram coletadas as amostras nos dias 1, 15, 29, 43 e 57 após o revestimento, como descrito na tabela 2.

Foram realizadas análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais, descritas a seguir.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos.

Músculos ovinos <i>longissimus</i>		
Embalagem	Faixa de Temperatura	Coleta (dias)
Vácuo com quitosana	0-2°C	1,15,29,43 e 57
Vácuo com zeína	0-2°C	1,15,29,43 e 57
Controle	0-2°C	1,15,29,43 e 57
Vácuo com quitosana	4-6°C	1,15,29,43 e 57
Vácuo com zeína	4-6°C	1,15,29,43 e 57
Controle	4-6°C	1,15,29,43 e 57

4.3.1. Análises físico-químicas

Foram realizadas análises de determinação de pH das amostras de carne, cor instrumental, capacidade de retenção de água (CRA), perda de peso por cocção, força de cisalhamento e oxidação lipídica como descrito anteriormente (Itens 4.1.3.1. ao 4.1.3.6.).

4.3.2. Análises Microbiológicas

Foram assepticamente pesados 10g de carne ovina de cada tratamento, posteriormente cortados em pequenos pedaços utilizando-se utensílios esterilizados, colocados em sacos estéreis com 90 mL de água peptonada

0,1% e homogeneizadas em Stomacher (Logen Scientific, LS-1901) por 2 minutos. Diluições decimais a partir da diluição 10^{-1} foram preparadas em tubos contendo 9,0 mL de água peptonada 0,1%, estas diluições foram utilizadas nas análises microbiológicas conforme o Bacteriological Analytical Manual (BAM) (70,71).

A análise de coliformes totais foi feita pelo método rápido utilizando placas de Petrifilm™ CC conforme as instruções do fabricante no manual 3M™ Petrifilm™ e os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g) (68).

Para contagem de BAL foi utilizado o protocolo proposto por Nero et al. (69), as amostras foram inoculadas em placas contendo o meio Agar MRS (De Man, Rogosa e Sharpe), com sobrecamada. Em seguida, as placas foram acondicionadas em jarras com geradores de microaerofilia (Anaerobe Container System) e incubadas a $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. Os resultados obtidos foram expressos em UFC/mL.

Para análise de *Salmonella* spp. foi utilizado o 1-2 Test para detecção de *Salmonella* conforme o manual do fabricante, os resultados mostraram ausência ou presença de *Salmonella*.

As análises de estafilococos e clostrídios sulfito redutor foram feitas conforme o Bacteriological Analytical Manual (70,71).

4.3.3 Análise sensorial descritiva

Para a análise descritiva foi feito um recrutamento de colaboradores da Embrapa Pecuária Sudeste que haviam participado de estudos

anteriores, verificando o interesse, a disponibilidade de tempo, a apreciação por carne ovina e alergia a frutos do mar. Os atributos foram pré-definidos levando em consideração a importância do atributo para a avaliação da carne ovina. Foi realizado um treinamento das referências dos atributos de interesse e discussão em grupo para obtenção do uso consensual dos termos descritivos. Os provadores receberam uma ficha com os termos levantados, as referências e uma ficha de avaliação descritiva do produto, onde a intensidade de cada descritor (aroma característico de carne ovina, 1 = extremamente suave, 9 = extremamente intenso; intensidade de aroma estranho, 1 = nenhum 9, = extremamente intenso; sabor característico de carne ovina, 1 = extremamente suave, 9 = extremamente intenso; intensidade de sabor estranho, 1 = nenhum 9 = extremamente intenso; maciez, 1 = extremamente dura, 9 = extremamente macia; suculência, 1 = extremamente seca, 9 = extremamente suculenta) pode ser avaliada em cada amostra por meio de escala estruturada de 9 pontos, ancorada nos extremos com termos de intensidade conforme os anexos III e IV.

As amostras foram descongeladas à temperatura de refrigeração em geladeira no dia anterior à análise. As amostras foram assadas em um forno combinado Tedesco, pré-aquecido a 170° C, sendo que em cada bife foi introduzido um termopar conectado a um computador munido de software específico que mostrou a variação da temperatura, até alcançar 70° C no centro geométrico. As amostras foram cortadas em cubos, envoltas em papel alumínio e acondicionadas em estufa. As amostras foram avaliadas no Laboratório de Carnes da Embrapa Pecuária Sudeste – São Carlos-SP

por 10 provadores, em cabines individuais utilizando o programa FIZZ Software version 2.41 (Biosystemes, Couternon, France), elaborado para a análise sensorial. As amostras foram codificadas com números de três algarismos gerados de forma aleatória pelo programa.

Foram realizadas três sessões de análises. Em cada sessão foram servidas seis amostras, três de cada vez, onde foram avaliados os atributos definidos.

4.3.4. Análise Estatística

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado onde os fatores foram: temperatura de armazenamento, tipo de revestimento e tempo de estocagem. A análise de variância (ANOVA) foi realizada utilizando o programa estatístico XLSTAT 2012 para determinar diferenças significativas entre os tratamentos. Quando as diferenças foram detectadas, ao nível de 5%, foi realizado o teste de Tukey para comparação de médias entre tratamentos.

Para análise sensorial descritiva com os dados coletados, foi realizada análise de variância (ANOVA). Foi aplicado o teste de Tukey para comparação das médias das amostras.

5. Resultados e discussão

5.1. Estudo do efeito de diferentes plastificantes em revestimento a base de zeínas na qualidade da carne ovina.

O resumo de análise de variância das análises físico-químicas (pH, cor instrumental, capacidade de retenção de água, força de cisalhamento e oxidação lipídica) de carne ovina revestida com diferentes filmes a base de zeínas por 36 dias estão expressos na tabela 3.

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para todos os parâmetros estudados, tanto para o efeito de revestimentos quanto para o tempo de armazenamento, bem como para interação revestimento x tempo, com exceção da capacidade de retenção de água.

Tabela 3. Resumo de análise de variância para análises físico-químicas de carne ovina revestida com diferentes formulações a base de zeínas estocado a 4-6°C por 36 dias.

Fonte de variação ¹	GL	Quadrados médios						
		pH	L	a*	b*	CRA	FC	TBARS
Rev.	7	0,007***	8,301**	7,315***	3,725***	13,565*	1,218***	0,018***
Tempo	5	0,030***	30,557***	78,467***	1,878**	84,495***	0,754***	0,001***
Rev.xTempo	35	0,004***	4,145**	3,078***	1,202**	7,579	0,488***	0,002***
R ²		0,721	0,470	0,753	0,459	0,358	0,304	0,923
CV%		0,786	5,108	16,018	7,219	3,857	24,288	41,053

***P<(0,0001);**P<(0,01);*P<(0,05)

¹Rev. = Revestimento; Temp. = temperatura; CV= coeficiente de variação; GL= grau de liberdade; L=luminosidade; a*=intensidade da cor vermelha; b*intensidade da cor amarela; CRA= capacidade de retenção de água, FC= força de cisalhamento

5.1.1. pH

Observa-se pelos resultados que houve efeito significativo ($p < 0,05$) dos revestimentos, do tempo e interação sobre o pH da carne ovina (Tabela 3).

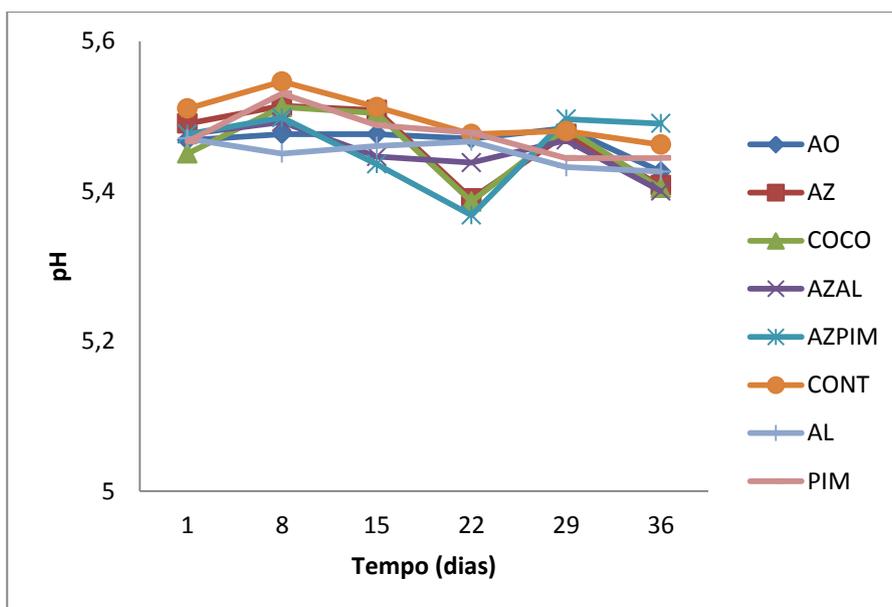


Figura 3. Valores médios de pH para bifes obtidos do músculo *longissimus* de ovinos revestidos com diferentes formulações à base de zeínas estocado a 4-6°C por 36 dias. CONT= controle; AO= ácido oleico; PIM= óleo de pimenta rosa; AL= óleo de alecrim; AZ= azeite; COCO= óleo de coco; AZAL= azeite + óleo de alecrim; AZPIM= azeite + óleo de pimenta rosa.

Os valores de pH observados para os bifes de ovinos em todos os tratamentos durante 36 dias tiveram uma variação de 5,37 a 5,55, sendo próximos aos citados na literatura. Sobrinho et al.(72) verificou que o valor do pH final na carne ovina varia de 5,5 a 5,8. Portanto, mesmo havendo diferença significativa entre as amostras, todas ficaram dentro dos parâmetros desejáveis segundo a literatura.

5.1.2. Cor instrumental

Houve efeito significativo ($p < 0,05$) dos revestimentos, tempo e interação revestimento x tempo para os parâmetros de cor (luminosidade, intensidade de vermelho e intensidade de amarelo).

Os valores médios para os parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) dos tratamentos e da amostra controle em seis períodos de armazenamento estão apresentados nas figuras 4, 5 e 6, respectivamente.

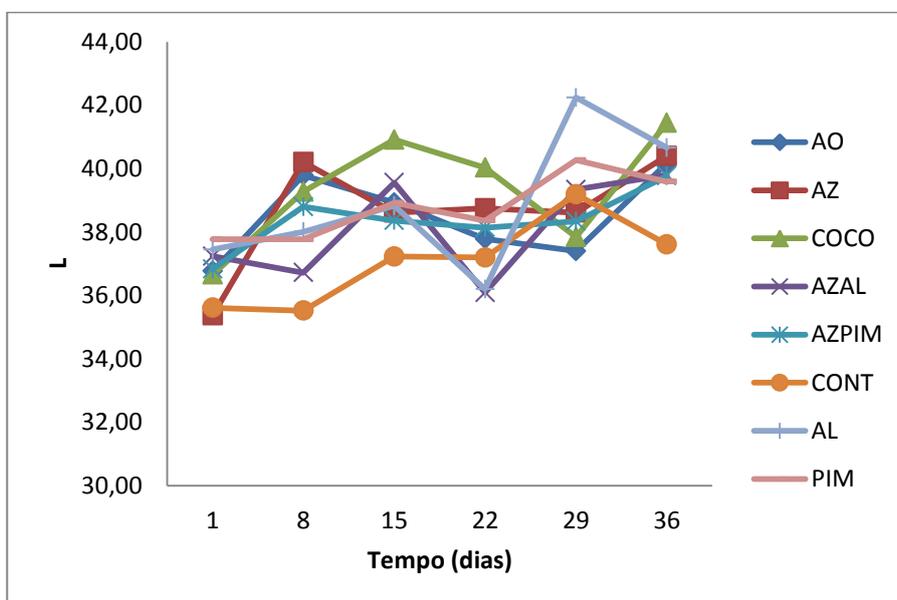


Figura 4. Valores médios de L^* para bifes obtidos do músculo *longissimus* de ovinos revestidos com diferentes formulações à base de zeínas estocado a 4-6°C por 36 dias. CONT= controle; AO= ácido oleico; PIM= óleo de pimenta rosa; AL= óleo de alecrim; AZ= azeite; COCO= óleo de coco; AZAL= azeite + óleo de alecrim; AZPIM= azeite + óleo de pimenta rosa.

Em carne de ovinos são citadas por Sobrinho (72) e Sañudo (73) variações de 30,03 a 49,47 para L^* , de 8,24 a 23,53 para a^* e de 3,38 a 11,10 para b^* L.

A luminosidade (L^*) é considerada um dos parâmetros mais importantes para a qualidade de produtos cárneos (74). Segundo Zeola et al. (75), quanto menor o valor de luminosidade mais escura é a carne.

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) nos valores de luminosidade (L^*) ao longo do tempo para o controle e as amostras AO, AZAL, AZPIN e PIM.

A quantidade de mioglobina e as proporções relativas desse pigmento determinam a cor do músculo, que pode ser encontrado na forma mioglobina reduzida (Mb, cor púrpura), oximioglobina (MbO_2 , cor vermelha) e metamioglobina (MetMb, cor marrom). Carnes com menor L^* e maior a^* apresentam cores mais vermelhas (76).

Com 8 dias de armazenamento a luminosidade do controle foi estatisticamente menor ($p<0,05$) na amostra de AO, AZ, e COCO. Porém com 36 dias de armazenamento essa diferença deixou de existir.

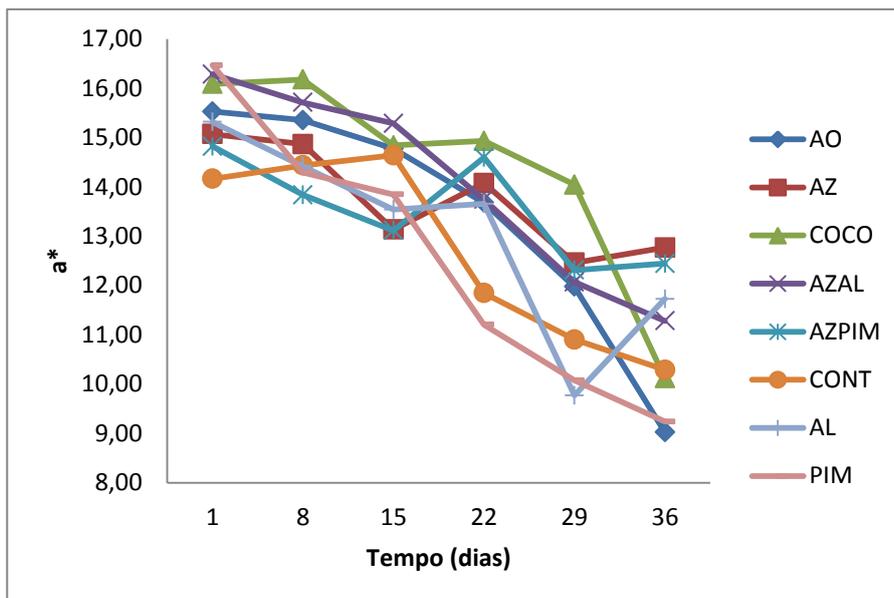


Figura 5. Valores médios de a^* para bifes obtidos do músculo *longissimus* de ovinos revestidos com diferentes formulações à base de zeínas estocado a 4-6°C por 36 dias
CONT= controle; AO= ácido oleico; PIM= óleo de pimenta rosa; AL= óleo de alecrim; AZ= azeite; COCO= óleo de coco; AZAL= azeite + óleo de alecrim; AZPIM= azeite + óleo de pimenta rosa.

O parâmetro a^* (relacionado à cor vermelha) é importante para a aceitabilidade da carne *in natura*, pois este é o principal parâmetro de cor relacionado à carne vermelha (28).

As amostras revestidas com solução filmogênica à base de zeínas contendo azeite (AZ) e azeite + óleo de pimenta rosa (AZPIM) mantiveram o parâmetro a^* sem diferença significativa ($p>0,05$) ao longo dos 36 dias de armazenamento e a formulação COCO teve mudança somente no último dia de análise. Ao comparar as formulações observa-se que no dia 1 as amostras não havia diferença significativa ($p>0,05$) em relação ao parâmetro a^* , porém no 36 a diferença foi mais expressiva, sendo que a amostra AO apresentou menor valor em comparação às amostras AZ e AZPIM,

demonstrando que a amostra AO perdeu mais intensidade da cor vermelha na carne.

A mioglobina e a oxidação lipídica estão relacionadas na carne (77) e dependem do equilíbrio entre substâncias anti e pró-oxidantes, incluindo a concentração de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), portanto quanto menor a oxidação menor será a alteração da cor da carne.

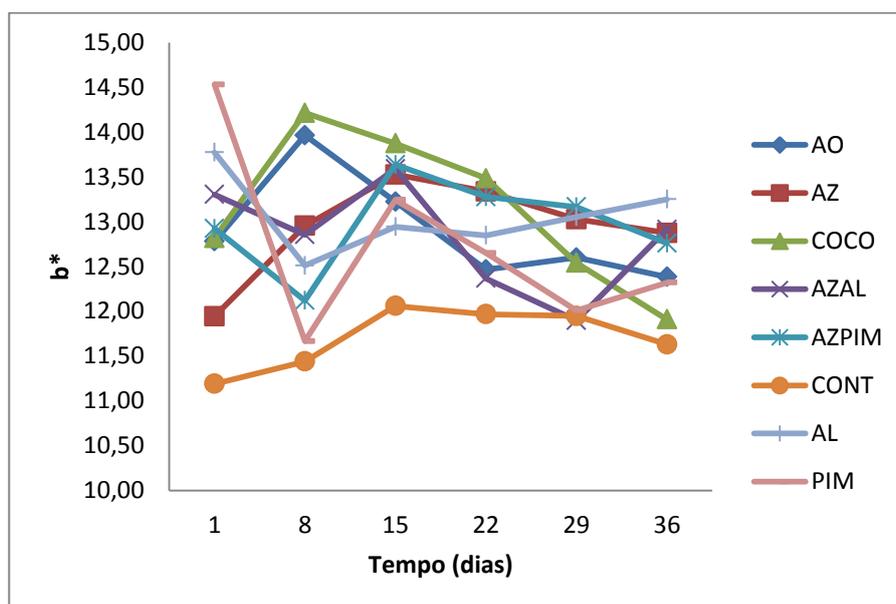


Figura 6. Valores médios de b^* para bifes obtido de músculo longissimus de ovinos revestidos com diferentes formulações à base de zeínas estocado a 4-6°C por 36 dias. CONT= controle; AO= ácido oleico; PIM= óleo de pimenta rosa; AL= óleo de alecrim; AZ= azeite; COCO= óleo de coco; AZAL= azeite + óleo de alecrim; AZPIM= azeite + óleo de pimenta rosa.

Em relação ao parâmetro b^* , somente as amostras contendo óleo de pimenta rosa (PIM) e óleo de coco (COCO) apresentaram alterações estatisticamente significativas ($p < 0,05$) para o parâmetro b^* ($+b$ = amarelo e $-b$ = azul) ao longo dos 36 dias de armazenamento. Com um dia de armazenamento o controle apresentou diferença estatisticamente

significativa ($p < 0,05$) das amostras AL, AZAL e PIM, enquanto que no dia 36 o controle apresentou menor valor de b^* em relação às amostras AL, AZ, AZAL.

5.1.3. Capacidade de Retenção de Água (CRA)

Houve efeito significativo ($P < 0,05$) dos diferentes revestimentos e do tempo, porém a interação não teve efeito significativo ($P > 0,05$) na capacidade de retenção de água. Os valores médios de capacidade de retenção de água (CRA) dos tratamentos e da amostra controle em seis tempos de armazenamento estão apresentados na figura 7, estes valores variaram entre 75 e 85%.

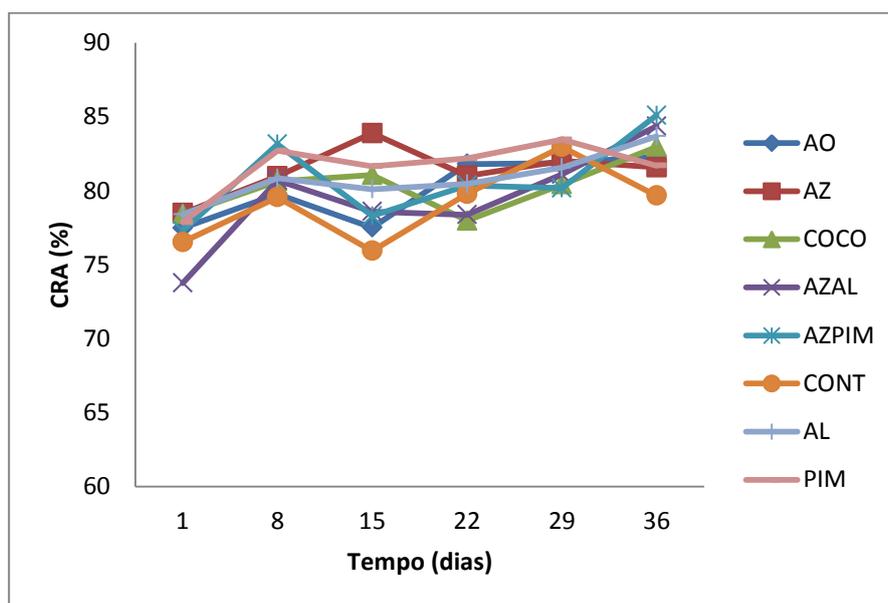


Figura 7. Valores médios de CRA para bifes obtido de músculo longissimus de ovinos revestidos com diferentes formulações à base de zeínas estocado a 4-6°C por 36 dias. CONT= controle; AO= ácido oleico; PIM= óleo de pimenta rosa; AL= óleo de alecrim; AZ= azeite; COCO= óleo de coco; AZAL= azeite + óleo de alecrim; AZPIM= azeite + óleo de pimenta rosa.

De acordo com Pardi et al. (78), a menor capacidade de retenção de água da carne resulta em carne mais seca e com menor maciez e a maior perda do exudado, o que implica em perdas do valor nutritivo.

Os bifes de carne ovina que foram revestidos com soluções filmogênicas contendo óleo de alecrim (AL), azeite (AZ), óleo de coco (COCO) e óleo de pimenta rosa (PIM) mantiveram a capacidade de retenção de água ao longo do tempo. Nos tempos 1, 8, 22, 29 e 36 dias de análise não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos. Houve diferença somente no 15º dia de armazenamento entre o CONT e a amostra AZ, sendo que o controle teve menor valor de capacidade de retenção de água.

5.1.4. Força de cisalhamento

Houve efeito significativo dos diferentes revestimentos, do tempo e da interação na força de cisalhamento da carne ovina. Os valores médios para força de cisalhamento dos tratamentos e da amostra controle em seis tempos de armazenamento estão apresentados na figura 8.

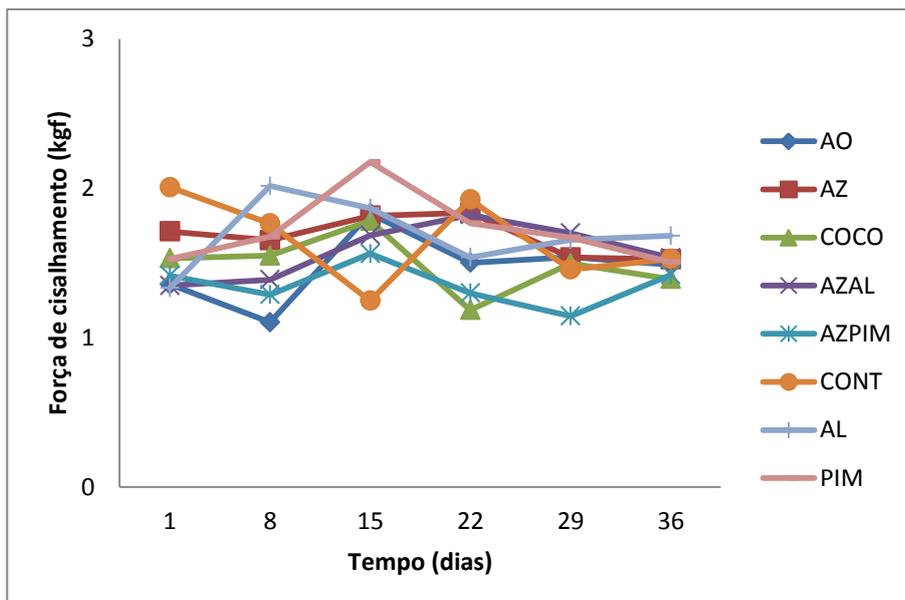


Figura 8. Valores médios de força de cisalhamento para bifes obtido de músculo *longissimus* de ovinos revestidos com diferentes formulações à base de zeínas estocado a 4-6°C por 36 dias.

CONT= controle; AO= ácido oleico; PIM= óleo de pimenta rosa; AL= óleo de alecrim; AZ= azeite; COCO= óleo de coco; AZAL= azeite + óleo de alecrim; AZPIM= azeite + óleo de pimenta rosa.

Verificou-se que a amostra contendo azeite (AZ) não teve mudança significativa ($P > 0,05$) na maciez ao longo do tempo. Porém, de acordo com Monsón et al. (79) é esperado que o processo de maturação afete diretamente a força de cisalhamento e caracteriza decréscimo significativo nos valores de força de cisalhamento por meio do processo de maturação ao longo do tempo. Portanto é esperado que haja um decréscimo da força de cisalhamento ao longo do tempo independente do plastificante utilizado, mas as propriedades dos plastificantes não promovem a maciez da carne. No 36º dia de armazenamento não houve diferença significativa entre a força de

cisalhamento das amostras e do controle, portanto neste tempo os bifes estavam igualmente macios.

A força de cisalhamento apresenta alto potencial para predizer a maciez do músculo *longissimus*. Quanto menos força é necessária para cortar a carne, mais macio é o corte (80,23). Zapata et al. (81) encontrou valores de força de cisalhamento para carne ovina variando entre 4,46 a 4,85 kgf, enquanto Gularte et al. (82) ao avaliarem animais de diversos sexos e pesos de abate, observaram que a força de cisalhamento no músculo *longissimus* de ovinos abatidos aos 9 meses de idade (3,43 kgf/cm²) foi maior que nos animais abatidos com 7 e 8 meses (2,08 kgf/cm² e 2,31 kgf/cm²). A força de cisalhamento das amostras analisadas foram inferiores ao encontrado na literatura, conseqüentemente esta carne pode ser considerada macia, inclusive pelo fato da carne ovina em geral ser considerada uma carne macia.

5.1.5. Perda de peso por cocção

Os valores de perda de peso por cocção (PPC) das amostras revestidas com diferentes formulações à base de zeínas e do controle ao longo do tempo estão apresentados na figura 9.

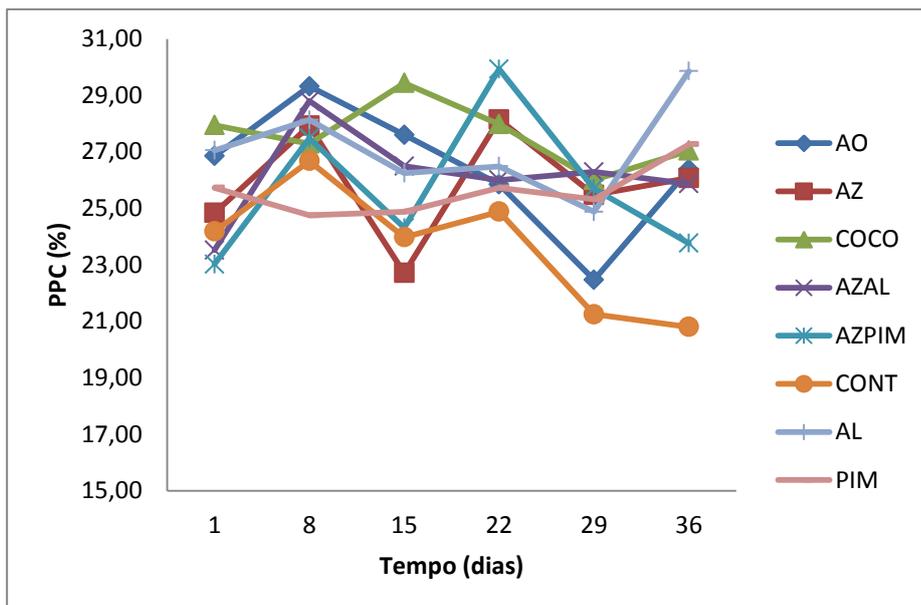


Figura 9. Valores de perda de peso por cocção (%) para bifes obtido de músculo longissimus de ovinos revestidos com diferentes formulações à base de zeínas estocado a 4-6°C por 36 dias.

CONT= controle; AO= ácido oleico; PIM= óleo de pimenta rosa; AL= óleo de alecrim; AZ= azeite; COCO= óleo de coco; AZAL= azeite + óleo de alecrim; AZPIM= azeite + óleo de pimenta rosa.

A perda de peso por cocção está relacionada ao rendimento da carne no momento do consumo, podendo ser influenciada pela capacidade de retenção de água nas estruturas da carne (83).

A amostra controle obteve perda por cocção menor em relação às amostras AL e COCO. Em relação aos tempos de análise somente o com 8 dias e 29 dias de armazenamento foram diferentes entre si, sendo que com 8 dias teve maior perda que 29 em relação a todos os tratamentos.

5.1.6. Oxidação Lipídica

A análise de variância mostrou que houve efeito significativo ($p < 0,05$) dos revestimentos, tempo e interação nos valores de oxidação lipídica da carne ovina. Os valores médios de TBARS em mg malonaldeído/kg de amostra dos tratamentos e da amostra controle em seis tempos de armazenamento estão apresentados nas figura 10.

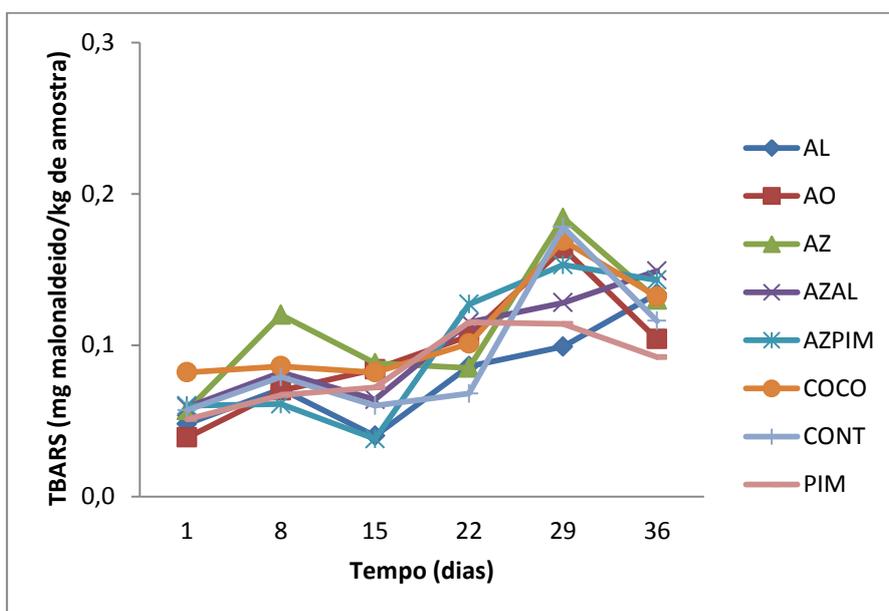


Figura 10. Valores médios de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em mg malonaldeído/kg de amostra para bifes obtido de músculo *longissimus* de ovinos revestidos com diferentes formulações à base de zeínas estocado a 4-6°C por 36 dias.

CONT= controle; AO= ácido oleico; PIM= óleo de pimenta rosa; AL= óleo de alecrim; AZ= azeite; COCO= óleo de coco; AZAL= azeite + óleo de alecrim; AZPIM= azeite + óleo de pimenta rosa.

No geral, as amostras tenderam a ter um aumento no valor de TBARS ao longo do tempo, atingindo maiores valores em 29 dias de armazenamento e apresentando uma queda no 36º dia. No dia 1 de armazenamento, amostra COCO apresentou maior oxidação (0,082 mg de MDA kg⁻¹). No dia 29, foram

observados os maiores valores de TBARS entre os tratamentos, sendo que o tratamento AZ apresentou maior valor se comparado com AL, AZAL e PIM, indicando que estes últimos oxidaram menos em relação aos outros.

Produtos finais de oxidação lipídica são considerados responsáveis pelo desenvolvimento da oxidação em carnes durante o armazenamento (83). De acordo com Limbo et al. (84) valores de TBARS superiores a 1,0 mg malonaldeído kg^{-1} de carne podem ser considerados oxidados. Verificou-se que os valores médios de TBARS nas amostras ao longo do tempo foram todos abaixo de 0,2 mg MDA kg^{-1} de amostra, portanto as amostras foram consideradas dentro do parâmetro aceitável. Fernandes et al. (85) ao analisar oxidação lipídica em carne ovina estocada a vácuo sob refrigeração encontrou valores abaixo de 0,5mg de MDA kg^{-1} . Já Cifuni et al. (86) ao analisar carne ovina em diferentes tempos de abate encontrou valores menores que 0,15mg de MDA kg^{-1} , sendo que animais abatidos com 45 dias tiveram maiores valores de TBARS que animais abatidos com 90 dias.

A atividade antioxidante dos óleos é atribuída a seus compostos fenólicos (87). Compostos fenólicos estão presentes no azeite virgem e sua atividade antioxidante foi reportada por alguns autores. Entre os óleos essenciais, o maior número de relatos sobre as propriedades antioxidantes efetivas refere-se a extratos de plantas pertencentes à família Labiatae, particularmente o alecrim (88). Segundo Viuda- Martos et al. (89) os componentes de óleo essencial de alecrim tem a capacidade em quelar o Fe^{2+} pelo método de FIC (quelação do íon ferro), a quelação de metais de transição é de grande importância, pois a transição de ions metálicos por catalisar a interação e a

decomposição de hidroperóxidos, contribui para a oxidação lipídica e de pigmentos. Estudos sobre o óleo essencial de pimenta rosa são limitados, porém Uliana et al. (90) ao avaliar as folhas de pimenta rosa pelo método de maceração reportou alto teor de compostos fenólicos totais e forte atividade antioxidante. Portanto, os valores baixos de oxidação lipídica nas amostras AZ, AZAL e PIM condizem com as propriedades dos plastificantes adicionados na solução filmogênica.

5.1.7. Halo de inibição

Em relação às sete formulações de revestimentos à base de zeínas utilizadas, foi verificado que nenhuma das formulações apresentou halo de inibição contra *Escherichia coli* ou *Stafilococcus aureus*.

Gonzáles-Aguilar et al., (91) apontam que os óleos essenciais possuem potencial para conservar alimentos, pois apresentam um amplo espectro antimicrobiano que varia de acordo com seu composto ativo individual. Porém os óleos essenciais: óleo de pimenta rosa e óleo de alecrim utilizados no estudo não apresentaram halo de inibição na concentração utilizada (0,5%).

De acordo com Burt (92) alguns componentes de óleos essenciais foram identificados pelo seu potencial antibacteriano, e. carvacrol, timol, eugenol, perilaldeído, cinamaldeído e ácido cinâmico, tendo concentrações inibitórias mínimas (MICs) de 0,05 a 5 $\mu\text{l ml}^{-1}$ in vitro. Porém é necessária concentração maior para alcançar o mesmo efeito nos alimentos. Estudos com carne fresca, produtos cárneos, peixe, leite, produtos lácteos, vegetais,

frutas e arroz cozido mostraram que a concentração necessária para alcançar um efeito antibacteriano significativo é de cerca de 0,5 a 20 $\mu\text{l g}^{-1}$. Possivelmente a concentração de óleo essencial utilizada na formulação não foi suficiente para ter a concentração inibitória mínima do componente antimicrobiano presente nestes óleos.

5.2. Conclusão

Os testes de pH e força de cisalhamento não foram decisivos para a escolha do melhor plastificante, pois apesar de haver diferença entre as amostras, as mesmas ficaram dentro dos parâmetros desejáveis segundo a literatura.

A amostra contendo óleo de pimenta rosa e azeite foram as amostras que tiveram menores valores de oxidação lipídica. Estes plastificantes também se mantiveram estáveis os valores de luminosidade (L^*) e a capacidade de retenção de água ao longo do tempo. Sendo assim, é promissora a utilização destes plastificantes neste tipo de revestimento para maior conservação do produto. Por haver menos pesquisas com óleo de pimenta rosa a formulação contendo este plastificantes foi utilizada na segunda parte do experimento.

5.3. Estudo do efeito da utilização de revestimentos de zeínas e quitosana em carne ovina

5.3.1. Teste de diferença do controle

No teste de diferença do controle, onde foi avaliado se haveria diferença entre a amostra de carne ovina sem revestimento e aquelas revestidas com quitosana ou zeínas, a carne ovina revestida com zeínas obteve valor médio de 4 (diferença moderada/grande), enquanto as amostras controle e quitosana apresentaram média 2 (diferença ligeira/moderada) como apresentado na figura 11. Concluiu-se que a amostra com revestimento de zeínas ($p < 0,05$) diferiu das amostras controle e quitosana.

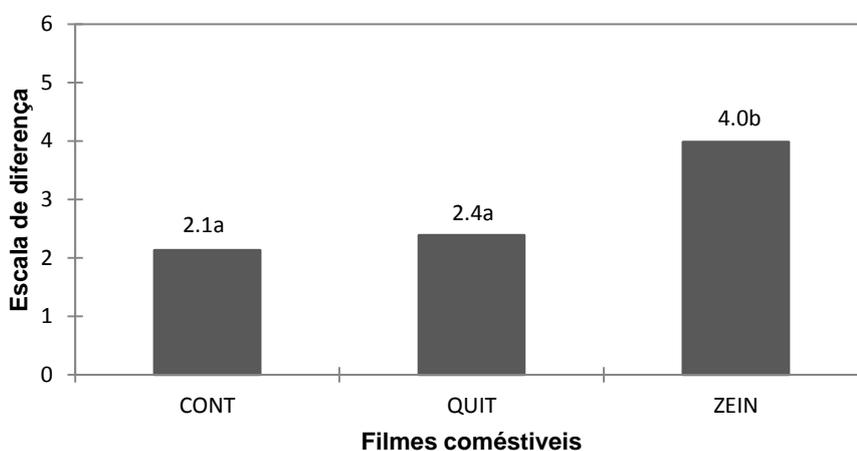


Figura 11. Resultados de diferença do controle para amostras sem revestimento e com revestimentos comestíveis. Escala: 0 = sem diferença; 1 = diferença muito ligeira; 2 = diferença ligeira/moderada; 3 = diferença moderada; 4 = diferença moderada/grande; 5 = diferença grande; 6 = diferença muito grande.

5.3.2. Estudo da estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial da carne ovina revestida com zeína ou quitosana a diferentes temperaturas

O estudo foi conduzido por 57 dias de armazenamento ao invés de 60 dias como proposto inicialmente, pois por logística do laboratório as coletas

foram feitas de 14 em 14 dias, sendo assim as análises foram feitas no mesmo dia da semana nos 5 tempos de coleta. A primeira coleta foi feita após um dia do revestimento, ou seja, com um dia de armazenamento, pois este era o tempo mínimo necessário para o filme aderir na amostra. Sendo assim, as análises foram realizadas com 1, 15, 29, 43 e 57 dias de armazenamento.

5.3.2.1 Análises físico-químicas

O resumo de análise de variância das análises físico-químicas (pH, cor instrumental, capacidade de retenção de água, força de cisalhamento e oxidação lípidica) de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias estão expressos na tabela 4.

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) na interação tripla (revestimento x temperatura x tempo) em todas as análises, com exceção da capacidade de retenção de água.

Tabela 4. Resumo de análise de variância para análises físico-químicas de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios						
		pH	L	a*	b*	CRA	FC	TBARS
Rev.	2	0,008	54,145**	8,080*	7,955**	36,665	2,86***	0,024***
Temp.	1	0,011	0,000	2,421	1,962	117,360*	0,384	0,016***
Tempo	4	0,729***	129,826***	112,392***	12,454***	16,242	1,056**	0,000
Rev.xTemp.	2	0,143***	59,537**	5,936	15,536***	25,302	0,814*	0,004***
Rev.xTempo	8	0,042***	11,095	3,679	1,717	43,814*	1,693***	0,015***
Rev.xTemp. x Tempo	12	0,120***	25,823**	9,460**	4,207**	18,953	2,841***	0,002***
R ²		0,887	0,61	0,726	0,576	0,189	0,392	0,918
CV%		3,687	9,616	22,474	10,482	6,422	28,89	44,762

***P<(0,0001);**P<(0,01);*P<(0,05)

¹Rev. = Revestimento; Temp. = temperatura; CV= coeficiente de variação; GL= grau de liberdade; L=luminosidade; a*=intensidade da cor vermelha; b*intensidade da cor amarela; CRA= capacidade de retenção de água, FC= força de cisalhamento

pH

Observa-se na tabela 4 que não houve efeito significativo ($p>0,05$) do revestimento e da temperatura sobre o pH da carne ovina, mas houve efeito significativo ($P<0,05$) em relação ao tempo e todas as interações, duplas (revestimento x temperatura, revestimento x tempo e revestimento x temperatura x tempo).

Os valores médios de pH de carne ovina revestida com zeínas ou quitosana armazenadas a 0°C e 5°C ao longo de 57 dias estão representados na figura 12, que variaram de 4,9 a 5,5.

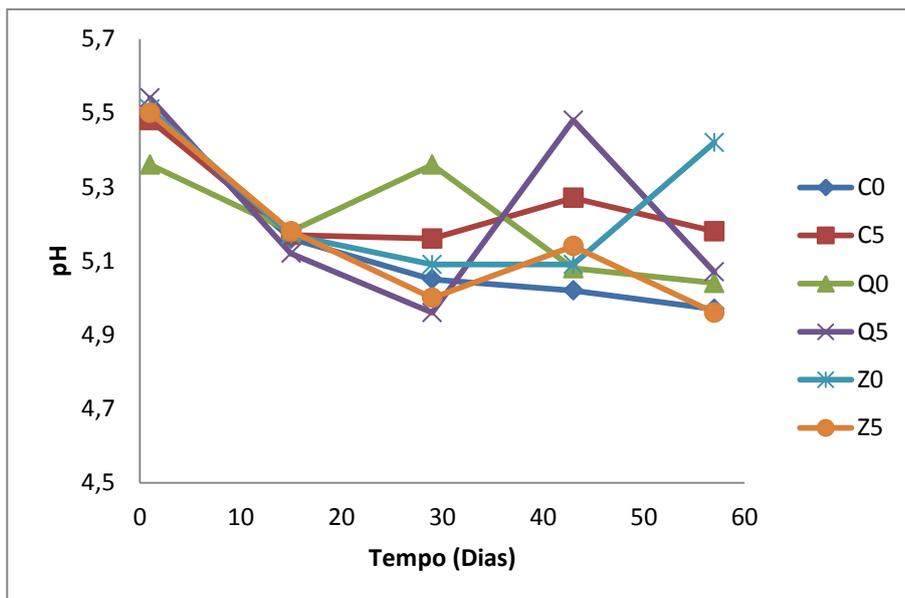


Figura 12. Valores médios de pH de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitossana a 0°C; Q5= Quitossana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

Os valores de pH das amostras ficaram próximos e houve um decréscimo ao longo do tempo. Com 1 dia de armazenamento foram observados valores de pH de 5,36 a 5,54, já com 57 dias de armazenamento os valores variaram de 4,96 a 5,54, sendo que os resultados do tempo 1 foram estatisticamente maiores ($P < 0,05$) que os valores com 57 dias. O decréscimo dos valores de pH ao longo do tempo pode ser explicado pela produção de ácido láctico no metabolismo de bactérias ácido lácticas, pois houve um aumento dessas bactérias ao longo do tempo (tabela 8). Valores de pH entre 5,65 e 5,76 são considerados normais em carne ovina no estudo do efeito da raça sobre a qualidade da carne (73).

Cor instrumental

O revestimento e o tempo apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) para os parâmetros L, a^* e b^* , enquanto a temperatura não teve efeito significativo ($P > 0,05$) para esses parâmetros. Quanto às interações, a interação tripla foi significativa nos três parâmetros e a interação dupla revestimento x temperatura teve efeito para os parâmetros L e b^* como apresentado na tabela 4. A evolução dos parâmetros de cor (L, a^* e b^*) dos diferentes revestimentos, em duas temperaturas durante 57 dias estão apresentados nas figuras 13, 14 e 15 respectivamente.

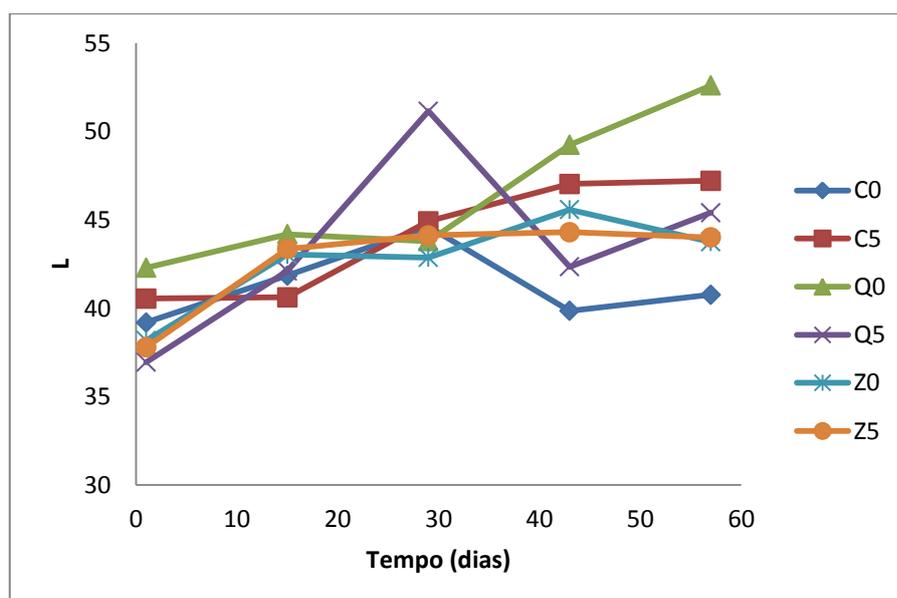


Figura 13. Valores médios de luminosidade (L) de carne ovina revestida com quitossana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitossana a 0°C; Q5= Quitossana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

A intensidade da cor da carne é determinada pela concentração total e pela estrutura da mioglobina, que é afetada por fatores *ante mortem*, como

espécie, sexo e idade do animal, e por fatores *post mortem*, como região anatômica, temperatura e pH (72).

A luminosidade (L) apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) entre as amostras. No geral houve um aumento na luminosidade em todas as amostras e quanto maior o valor de L mais clara é a amostra. Porém, somente as amostras com revestimento de quitosana, tanto a armazenada a 0°C quanto a 5°C, teve diferença estatística ao compararmos o primeiro dia de armazenamento com o último dia de armazenamento. E a amostra controle à 0°C teve diferença estatística quando comparada com a amostra de quitosana à 0°C com 57 dias de armazenamento. Portanto, a carne revestida com quitosana estava mais clara que a amostra controle no último dia de armazenamento, indicando que o quitosana teve efeito na luminosidade da amostra.

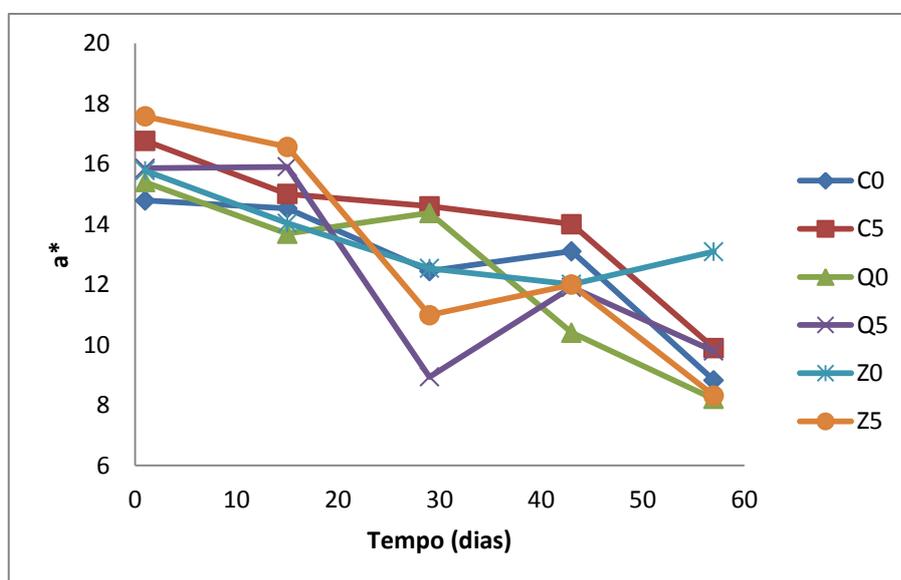


Figura 14. Valores médios de intensidade de vermelho (a^*) de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitosana a 0°C; Q5= Quitosana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

O parâmetro a^* (relacionado à cor vermelha) teve diferença estatística ($p < 0,05$) quanto ao revestimento e tempo, assim como para a interação tripla. No geral, o parâmetro a^* diminuiu ao longo do tempo, com exceção da amostra revestida de zeínas a 0°C. Segundo Renerre e Labadie (77) a mioglobina e a oxidação lipídica estão relacionadas na carne, e como podemos observar no gráfico de oxidação lipídica (figura 21) a carne com revestimento de zeínas foi uma das que obteve menor valor de TBARS. Podemos observar também pela figura 16 que a carne com revestimento de zeínas a 0°C é a que ficou com uma tonalidade mais avermelhada com 57 dias de armazenamento.

O revestimento de zeínas tem óleo de pimenta rosa em sua formulação e este composto foi mencionado por Uliana et al. (90) pelo seu alto teor de compostos fenólicos totais e forte atividade antioxidante. Por causa da associação entre mioglobina e a oxidação lipídica (77) na carne, podemos concluir que a atividade antioxidante do óleo de pimenta rosa pode ter mantido a cor avermelhada da carne.

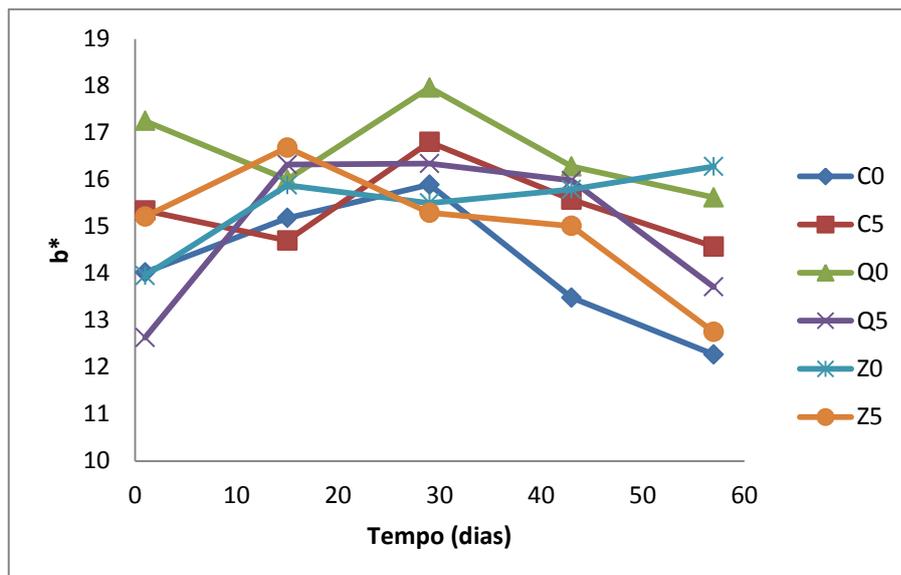


Figura 15. Valores médios de intensidade de amarelo (b^*) de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitosana a 0°C; Q5= Quitosana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

Houve diferença estatística entre as amostras em relação ao parâmetro b^* ($p < 0,05$). Os valores de b^* variaram de 12,27 a 17,96, maiores do que aqueles observados por Sañudo et al. (73) em carne ovina espanhola (5,90 e 6,86). Era esperado que a cor amarela natural presente na zeínas aumentasse o valor de b^* das carnes revestidas com esse filme, e Jo et al. (42) observou aumento de b^* ao adicionar quitosana na carne. Porém apesar dos resultados serem superiores ao reportado por outros autores não houve grande diferença entre a carne sem revestimento e as carnes revestidas com filme de quitosana ou zeínas como pode ser observado no gráfico.

Nas figuras 16 e 17 podemos observar a diferença de cor da carne ovina controle, revestida com zeína e quitosana, armazenada a 0°C (figura 16) e

5°C (figura 17) durante 57 dias. Nas imagens pode ser observado o escurecimento da carne ao longo do tempo.

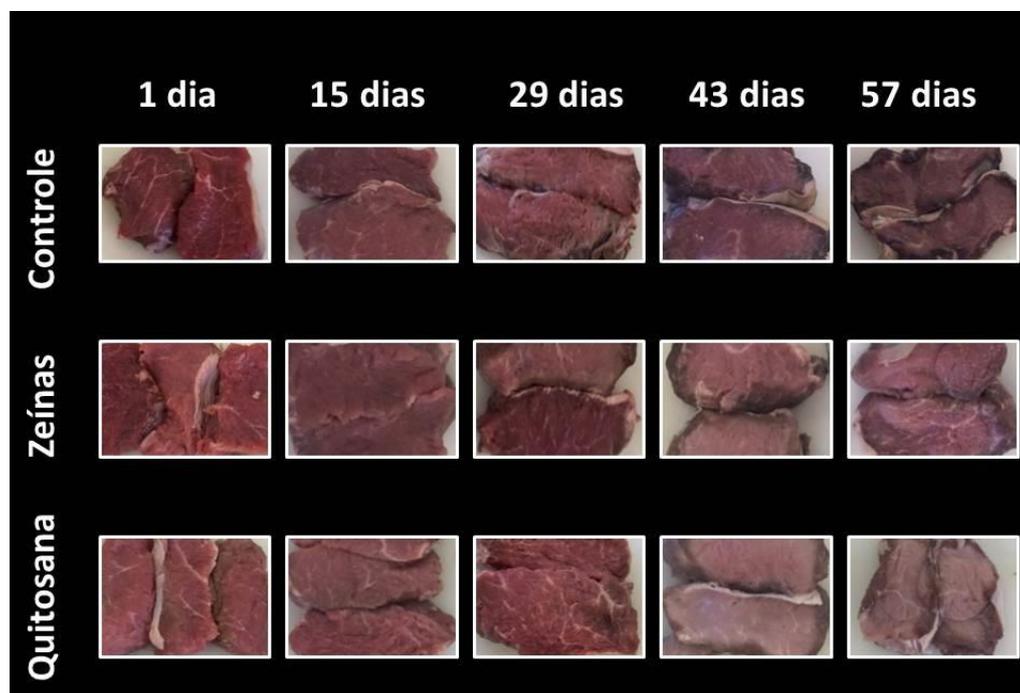


Figura 16. Imagem de carne ovina revestida com quitosana, zeína e controle armazenados a 0°C por 57 dias

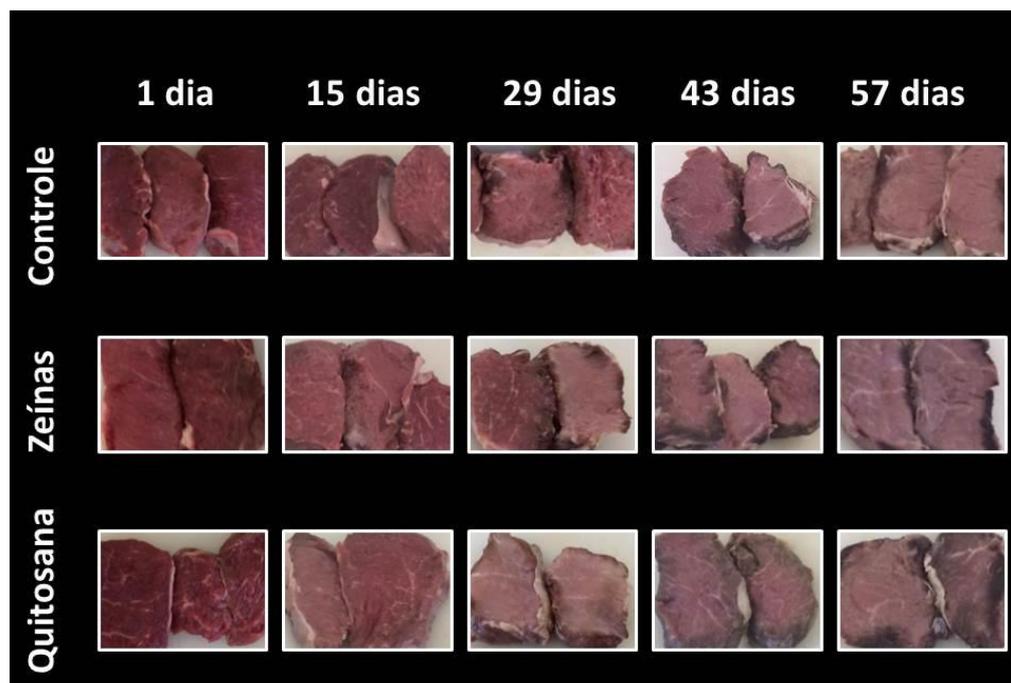


Figura 17. Imagem de carne ovina revestida com quitosana, zeína e controle armazenados a 5°C por 57 dias

Capacidade de retenção de água (CRA)

Os valores médios da capacidade de retenção de água (CRA) obtidos do músculo *longissimus* de carne ovina revestidas e conservadas em duas temperaturas durante 57 dias estão expressos na figura 18.

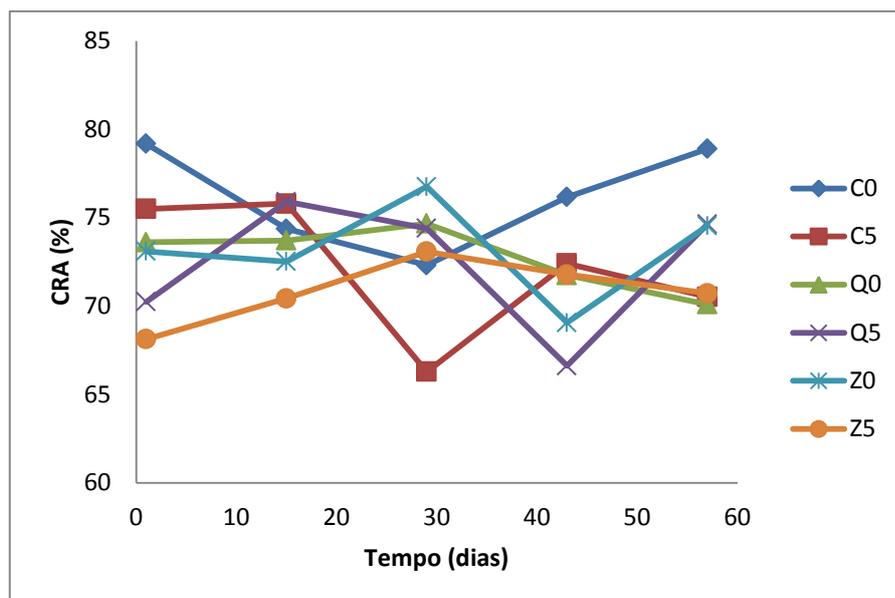


Figura 18. Valores médios de capacidade de retenção de água de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitosana a 0°C; Q5= Quitosana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

Quanto a capacidade de retenção de água houve efeito significativo ($p < 0,05$) somente da temperatura e da interação revestimento x tempo. Os resultados variaram entre 66% e 79%, enquanto Zeola et al. (75) obtiveram resultados entre 54 e 66% para carne de cordeiro não maturada, com 7 dias de maturação e 14 dias de maturação. De acordo com Pardi et al. (78) valores menores de CRA da carne provocam perdas do valor nutritivo pelo exudato liberado, sendo assim tem-se uma carne mais seca e com menor maciez. Apesar da diferença estatística encontrada podemos observar pelo gráfico que não houve grande diferença na capacidade de retenção de água das amostras e que todas tiveram valores superiores ao reportado por alguns autores.

Força de cisalhamento

As duas diferentes temperaturas utilizadas não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) para força de cisalhamento, as demais fontes de variação (revestimento e tempo) e as interações duplas e tripla apresentaram diferença significativa como mostrado na tabela 4.

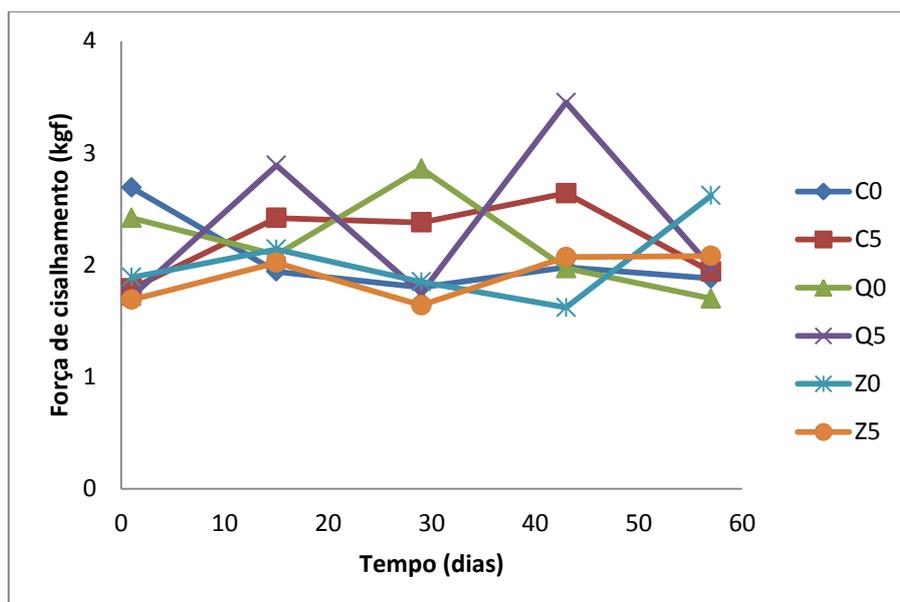


Figura 19. Valores médios de força de cisalhamento de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitosana a 0°C; Q5= Quitosana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

Houve diferença significativa entre as amostras ($p<0,05$) para a análise de força de cisalhamento, mostrando que as amostras tem diferença de maciez. Porém, segundo Zapata (81) independente do genótipo ou alimentação a carne ovina é mais macia que a carne bovina. Os valores obtidos para carne ovina neste experimento foram abaixo de 3,5 kg-f, sendo assim todas as amostras são bem macias, mesmo apresentando uma variação no decorrer do tempo e entre os tratamentos.

Perda de peso por cocção

Os valores de perda de peso por cocção (PPC) das amostras estão apresentados na figura 20.

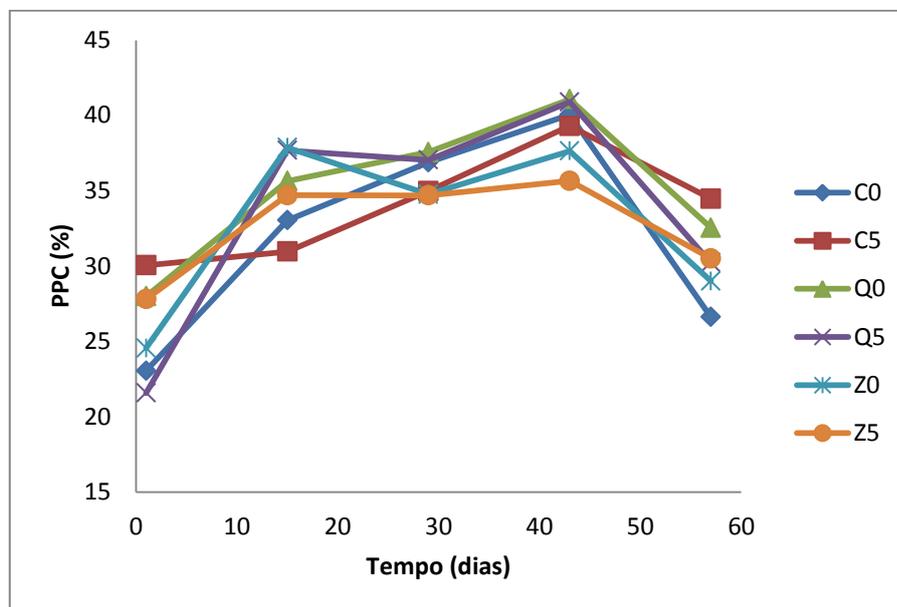


Figura 20. Valores de porcentagem de perda de peso por cocção de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitossana a 0°C; Q5= Quitossana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

O rendimento da carne no momento do consumo é definido pela perda de peso por cocção que é considerada uma importante característica de qualidade, podendo ser influenciada pela capacidade de retenção de água (78).

No geral, houve um aumento de perda de peso por cocção ao longo do tempo. Com 1 dia de armazenamento e com 57 dias de armazenamento a amostra que teve maior perda por cocção foi a amostra controle a 5°C.

Andres (94) citou que filmes podem funcionar como barreira contra a evaporação da umidade em carnes, resultando em uma menor perda de

peso e aumento da qualidade do produto. Forato et al. (52) cita que os filmes produzidos a partir da diluição de zeínas puras são potencialmente interessantes para aplicações como revestimentos ou barreiras à umidade e ao vapor de água. Devido a esses fatores as amostras com revestimentos tiveram menores valores de perda de peso por cocção que a amostra controle a 5°C.

Oxidação lipídica

O resumo de análise de variância da análise de oxidação lipídica de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias estão expressos na tabela 4.

Os valores médios de TBARS em mg malonaldeído/kg de amostra obtidos do músculo *longissimus* de carne ovina revestidas e conservadas em duas temperaturas durante 57 dias estão expressos na figura 21.

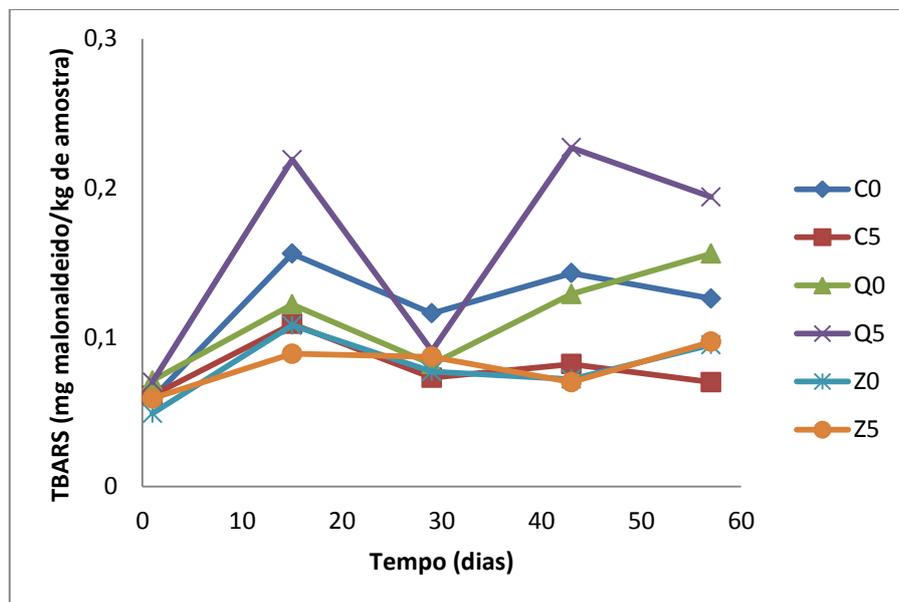


Figura 21. Valores médios de TBARS de carne ovina revestida com quitossana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitossana a 0°C; Q5= Quitossana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

Em relação a TBARS, houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os revestimentos, temperatura e para as interações duplas (revestimento x tempo e revestimento x temperatura) e tripla. No geral, houve um aumento da oxidação lipídica do primeiro dia de análise para o último dia de análise. No primeiro tempo não houve diferença entre as amostras nas duas temperaturas, porém no último tempo a amostra contendo quitossana, em ambas as temperaturas teve valores mais elevados que os demais, seguido pelo controle a 0°C que é estatisticamente igual a quitossana a 0°C.

De acordo com Limbo et al. (84) valores de TBARS superiores a 1,0 mg malonaldeído kg^{-1} de carne podem ser considerados oxidados. Verificou-se que os valores médios de TBARS nas amostras ao longo do tempo foram

todos abaixo de $0,3 \text{ mg MDA kg}^{-1}$ de amostra, portanto as amostras foram consideradas dentro do parâmetro aceitável.

Terra (95) afirma que valores de TBARS até $1,59 \text{ mg}$ de malonaldeído kg^{-1} de amostra são considerados baixos para serem percebidos por análise sensorial e não causam problemas para a saúde do ser humano.

5.3.2.2. Análise sensorial descritiva

O resumo de análise de variância da análise dos atributos da análise sensorial de carne ovina revestida com quitosana ou zeínas, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias estão expressos na tabela 5 e 6. A análise sensorial foi feita até 29 dias de armazenamento para os atributos de aroma e até 15 dias para os demais atributos. Apesar das amostras apresentarem resultados microbiológicos dentro do exigido pela legislação, não foi disponibilizada para análise sensorial nos demais tempos pelo fato da carne apresentar odores e sabores desagradáveis.

Tabela 5. Resumo análise de variância atributos da análise sensorial de aroma de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 29 dias.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios	
		ACCO	AE
Rev.	2	1,210	82,457***
Temp	1	2,151	39,763*
Tempo	2	16,256	62,405**
Rev.xTemp.	2	0,102	9,296
Rev.xTempo	4	1,407	8,790
Rev.xTemp.xTempo	6	1,548	10,295
R ²		-0,041	0,200
CV%		43,551	59,170

***P<(0,0001);**P<(0,01);*P<(0,05)

¹Rev. = Revestimento; Temp. = temperatura; GL= grau de liberdade; CV= coeficiente de variação; ACCO Aroma característico de carne ovina; AE=Intensidade de aroma estranho.

Tabela 6. Resumo análise de variância de atributos da análise sensorial de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 15 dias.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		SCCO	SE	MZ	SL
Rev.	2	5,627	63,365***	0,103	2,889
Temperatura	1	0,008	47,056**	0,643	0,794
Tempo	1	12,307	79,243	8,838*	1,455
Rev.xTemp.	2	0,341	3,079	0,643	5,365
Rev.xTempo	2	0,364	11,227	0,300	1,625
Rev.xTemp.xTempo	3	3,208	15,383	1,239	1,404
R ²		-0,038	0,249	-0,007	0,001
CV%		57,646	52,743	16,108	26,784

***P<(0,0001);**P<(0,01);*P<(0,05)

¹Rev. = Revestimento; Temp. = temperatura; GL= grau de liberdade; CV= coeficiente de variação; SCCO=Sabor característico de carne ovina; SE=intensidade de sabor estranho; MZ=Maciez; SL=Suculência.

Não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre as amostras para os atributos aroma característico de carne ovina, sabor característico de carne ovina e suculência. A maciez apresentou diferença significativa somente para o parâmetro tempo, a intensidade de aroma estranho teve diferença para todos os parâmetros (revestimento, tempo e temperatura) e a intensidade de sabor estranho para os parâmetros revestimento e temperatura.

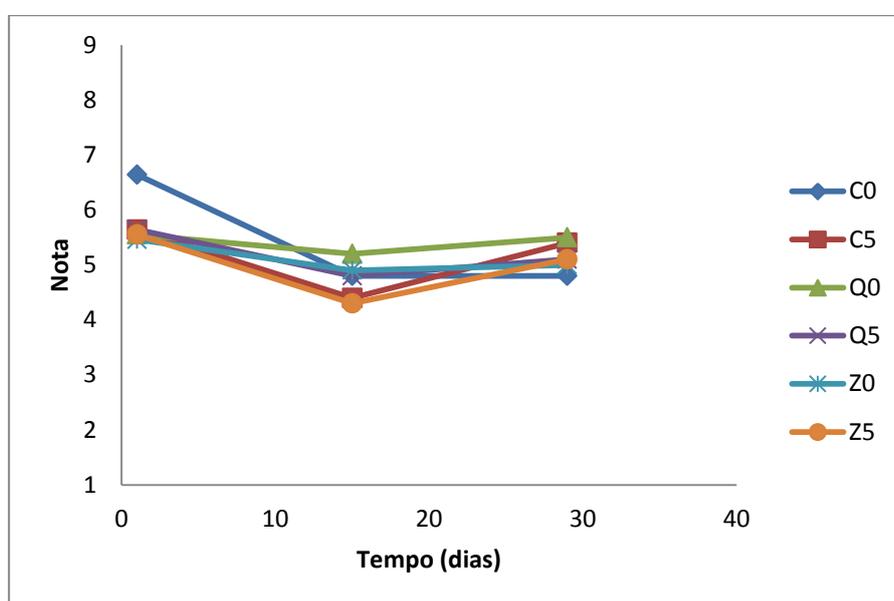


Figura 22. Valores médios das notas de aroma característico de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitosana a 0°C; Q5= Quitosana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

Mesmo utilizando um painel treinado, cada provador avalia o alimento de uma forma diferente, pois há variações na sensibilidade individual (96). Podendo explicar a falta de resultados significativos para alguns atributos sensoriais.

O aroma característico de carne ovina obteve notas entre 4,3 e 6,6, com base na escala estruturada valores muito próximos a nove indicam uma carne com aroma característico mais forte.

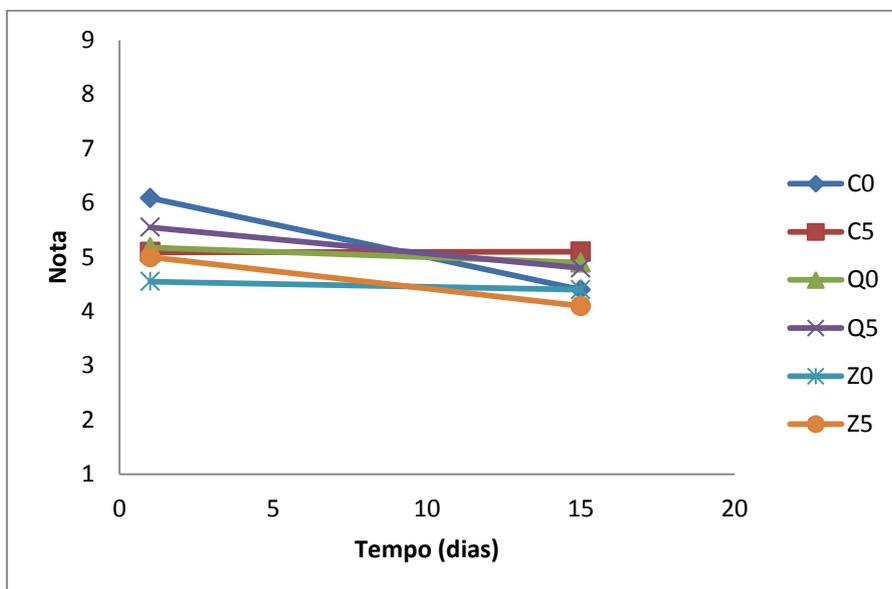


Figura 23. Valores médios das notas de sabor característico de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitosana a 0°C; Q5= Quitosana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) para o parâmetro sabor característico de carne ovina, este variou de 4,1 a 6,1, sendo 4 ligeiramente fraco e o 6 ligeiramente forte. Segundo Roça (97) o sabor característico pode estar relacionado com a idade de abate do animal, pois o sabor natural e característico da carne de uma determinada espécie se desenvolve quando o animal atinge sua maturidade e neste experimento todos os animais foram abatidos com a mesma idade.

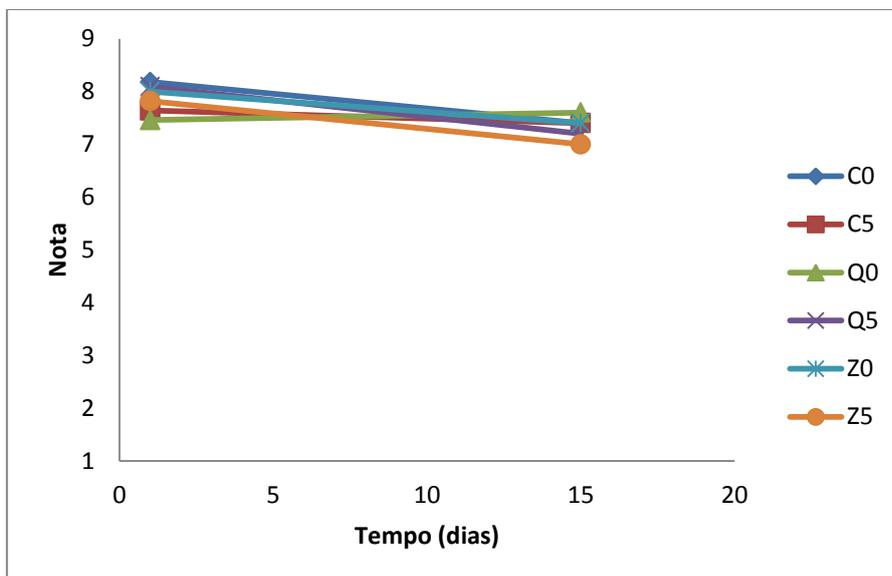


Figura 24. Valores médios das notas maciez de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitosana a 0°C; Q5= Quitosana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

A maciez da carne variou entre 7,0 e 8,2, sendo 7 moderadamente macia e 8 muito macia, este resultado reafirma o resultado obtido pela força de cisalhamento e é embasada por Zapata (81) que provou que independente do genótipo ou alimentação a carne ovina é mais macia que a carne bovina.

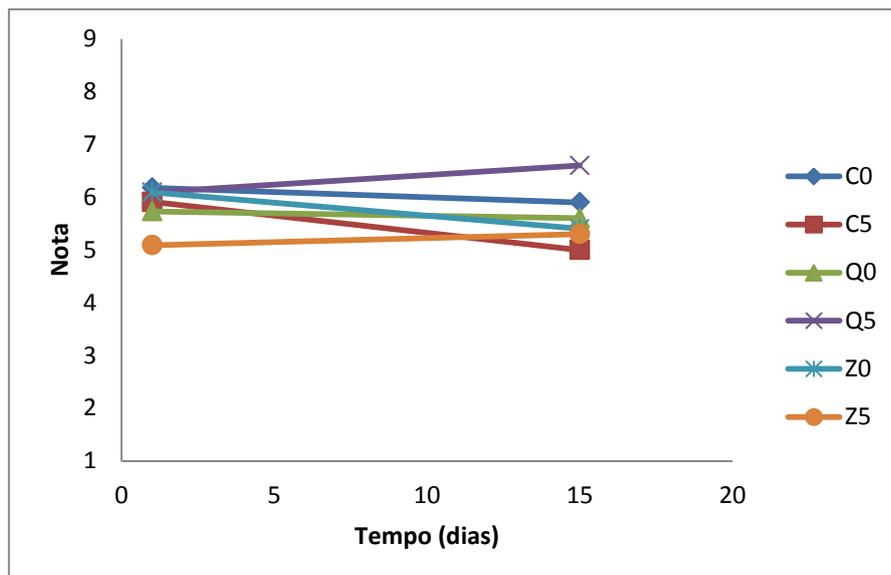


Figura 25. Valores médios das notas suculência de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias.

C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitosana a 0°C; Q5= Quitosana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

Quanto a suculência os valores variaram de 5,1 a 6,6, sendo 5 nem suculento nem seco e 6 ligeiramente suculento, esta variação não apresenta diferença estatística. Osório et al., (3) afirmam que a suculência da carne está relacionada com seu conteúdo intramuscular e por sua deposição de gordura, dessa forma a falta de diferença significativa nos resultados podem ser explicados por ter sido utilizado o mesmo corte da carne e mesma raça do animal em todos os tratamentos, sendo assim os revestimentos não influenciaram neste atributo.

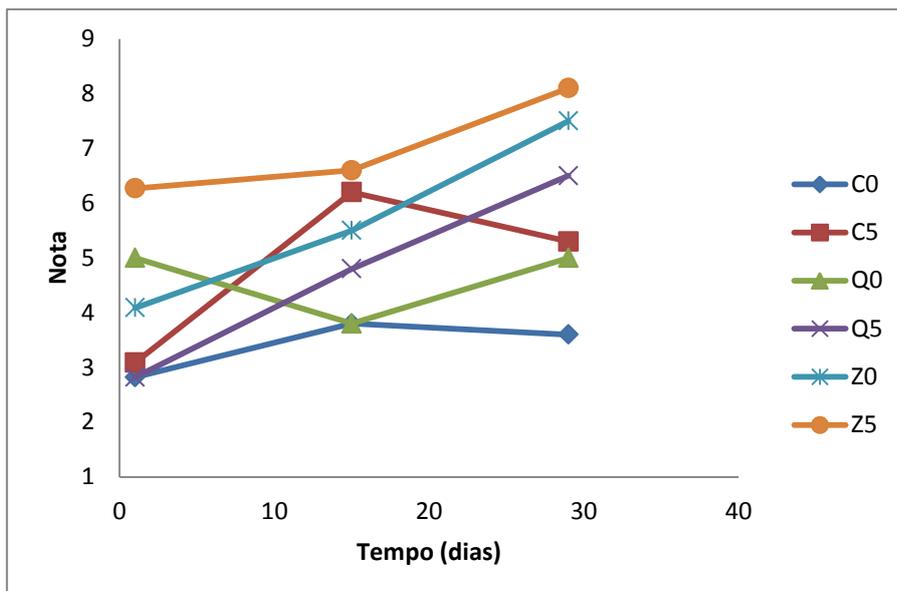


Figura 26. Valores médios das notas intensidade de aroma estranho de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias. C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitosana a 0°C; Q5= Quitosana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

Já para o atributo aroma estranho houve diferença estatística ($p < 0,05$) em relação ao revestimento, tempo e temperatura. Este atributo teve uma variação de 2,8 a 8,1, sendo 2 muito suave e 8 muito intenso. As maiores notas no decorrer do tempo foram atribuídas a zeína a 5°C.

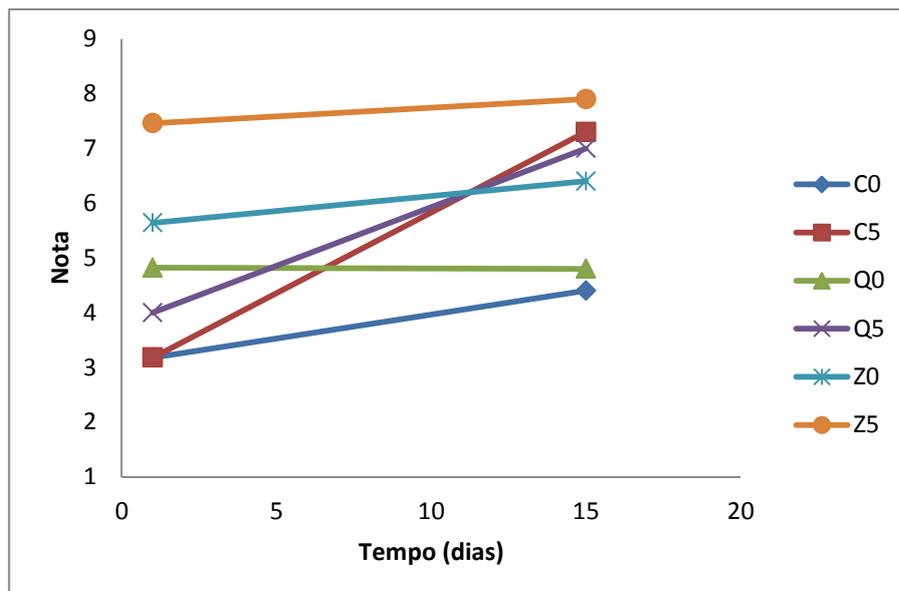


Figura 27. Valores médios das notas intensidade de sabor estranho de carne ovina revestida com quitosana ou zeína, armazenados à 0°C e 5°C por 57 dias. C0= Controle a 0°C; C5= Controle a 5°C; Q0= Quitossana a 0°C; Q5= Quitossana a 5°C; Z0= Zeínas a 0°C; Z5= Zeínas a 5°C.

O atributo intensidade de sabor estranho variou de 3,2 a 7,9, sendo 3 atribuído a moderadamente suave e 8 atribuído a muito intenso. As maiores notas foram dadas a amostra revestida de zeínas e armazenada a 5°C, assim como no fator aroma estranho. Com um dia de armazenamento a zeína a 0°C obteve a segunda nota mais alta, porém com 15 dias de armazenamento o mesmo não ocorreu.

5.3.2.3. Análises Microbiológicas

As análises de coliformes a 45°C apresentaram um resultado $<10\text{UFC g}^{-1}$ de amostra tanto para as amostras revestidas quanto para o controle, nas duas temperaturas e em todos os tempos. Dessa forma, as amostras estão conforme Resolução RDC nº 12/2001 (98), que limita a quantidade de coliformes a 45°C a 10^4 para carnes embaladas à vácuo.

Com relação a estafilococos coagulase positiva as colônias típicas foram negativas para o teste de coagulase, portanto todas as amostras apresentaram resultado $<10\text{UFC g}^{-1}$ de amostra, estando conforme a RDC nº 12/2001 (98).

Em todas as amostras ao longo do tempo o resultado de *Salmonella* ssp. foi ausente, assim como recomendado pela RDC nº 12/2001.

A Resolução RDC n. 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA não dispõe sobre os padrões microbiológicos de *Clostridium* sulfito redutor para carne *in natura* embalada à vácuo, porém há padrão para produtos cárneos. Durante os 57 dias de análise todas as amostras apresentaram população inferior a 10UFC g^{-1} de amostra para *Clostridium* sulfito redutor.

Esses resultados são explicados pela obtenção da carne em abatedouros de qualidade, onde são realizados os procedimentos padronizados e definidos pela legislação vigente, incluindo aspectos relacionados à higiene das instalações, equipamentos e utensílios.

Tabela 7. Valores bactérias lácticas (UFC/g) para bifés obtido de *longissimus* de ovino revestidos, armazenados 0°C e 5°C por 57 dias.

Tempo (dias)	Controle		Quitosana		Zeínas	
	0°C	5°C	0°C	5°C	0°C	5°C
1	$3,63 \times 10^5$	$7,05 \times 10^5$	$4,93 \times 10^4$	$1,03 \times 10^4$	$3,01 \times 10^5$	$5,73 \times 10^4$
15	$4,37 \times 10^6$	$3,93 \times 10^6$	$2,97 \times 10^6$	$3,57 \times 10^6$	$3,47 \times 10^6$	$1,35 \times 10^7$
29	$3,33 \times 10^6$	$4,97 \times 10^7$	$2,40 \times 10^6$	$1,02 \times 10^7$	$1,20 \times 10^7$	$1,60 \times 10^7$
43	$4,17 \times 10^6$	$2,87 \times 10^7$	$1,80 \times 10^6$	$5,77 \times 10^6$	$5,30 \times 10^6$	$2,11 \times 10^7$
57	$5,77 \times 10^6$	$3,10 \times 10^7$	$4,80 \times 10^6$	$9,1 \times 10^6$	$1,28 \times 10^7$	$1,09 \times 10^7$

Quanto aos resultados de contagem de bactérias lácticas (Tabela 8) podemos observar que houve um aumento considerável entre a contagem no primeiro e aos 57 dias de armazenamento. Este aumento pode ter ocasionado a queda no pH (99), como observamos na figura 12.

Segundo Gill (100) a embalagem à vácuo propicia o aumento do número de bactérias lácticas em carne armazenada refrigerada. O aumento das bactérias lácticas diminui a contagem de *Pseudomonas* ssp., que é um microrganismo aeróbio que causa deterioração do produto. Dessa forma, a embalagem à vácuo favorece o crescimento das bactérias lácticas que podem produzir substâncias antimicrobianas e retarda o crescimento de bactérias aeróbicas putrefativas.

6. Conclusão

Os revestimentos de quitosana e zeínas promoveram melhor conservação da carne ovina para alguns dos parâmetros analisados durante os 57 dias de armazenamento. Foi observado um decréscimo no pH da carne, mas possivelmente por estar embalada à vácuo, o CRA não teve diferença estatística ao longo do tempo, o que indica pouca perda de exsudado ao longo do tempo e manteve-se acima do encontrado na literatura. Quanto à cor houve escurecimento em todas as amostras, porém a amostra com revestimento de zeínas a 0°C manteve mais a cor avermelhada e o TBARS manteve-se bem abaixo do encontrado na literatura. Até o último dia de armazenamento não houve crescimento de

bactérias patogênicas, porém a carne só estava apta para ser consumida até o 15º dia de armazenamento por motivos sensoriais.

Portanto, apesar de ter apresentado sabor e aroma estranho, o revestimento a base de zeínas manteve melhor a cor avermelhada da carne e inibiu a oxidação lipídica. O revestimento de quitosana influenciou positivamente na luminosidade da carne. Dessa forma, as formulações das soluções filmogênicas de zeínas e quitosana estudadas são eficazes para alguns parâmetros de qualidade da carne, ou seja, é viável a utilização desses revestimentos dependendo do atributo da carne que deseja ser conservado.

7. Referências

1. Sociedade Nacional de Agricultura. Produção de carne ovina pode ser mais rentável que bovina. 2015. Disponível em:< <http://www.sna.agr.br/producao-de-carne-ovina-pode-ser-mais-rentavel-que-a-bovina/>>. Acesso em 22 agost. 2017.
2. ANUALPEC 2011: Anuário Estatístico da Pecuária de Corte. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2011.
3. Osório JCS, Osório MTM, Sañudo C. Características sensoriais da carne ovina, Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa. 2009;38: 292-300.
4. Sarantópoulos CIGL, Antônio JT. Embalagem para carnes in natura. In: Castillo CJC. (Ed). Qualidade da carne. São Paulo: Varela. 2006; 173-184.
5. Cardoso GP. Revestimentos comestíveis à base de gelatina, glicerina, quitosana e óleos essenciais para conservação de carne bovina refrigerada. Dissertação (Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras MG; 2011. 221 f.
6. Sagoo S, Board R, Roller S. Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products. Food Microbiology. 2002; 19(2-3): 175-182.
7. Petrou S, Tsiraki M, Giatrakou V, Savvaidis IN. Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. International Journal of Food Microbiology. 2012; 156(3): 264-271.
8. FAO, Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. Meat and Meat Products: price and trade update, 2015. Disponível em:

<http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Meat/Documents/Meat_and_Meat_Products_Rep_July_2015.pdf>.

Acesso em: 20 jun. 2016.

9. EMBRAPA. Panorama e perspectiva mundial da ovinocultura e caprinocultura, 2016. Disponível em:

<[https://www.embrapa.br/documents/1355090/0/Panorama+Mundial+Caprinocultura+e+Ovinocultura/d15ea59a-d9d1-4436-9f82-](https://www.embrapa.br/documents/1355090/0/Panorama+Mundial+Caprinocultura+e+Ovinocultura/d15ea59a-d9d1-4436-9f82-b84870d766ef?version=1.0)

[b84870d766ef?version=1.0](https://www.embrapa.br/documents/1355090/0/Panorama+Mundial+Caprinocultura+e+Ovinocultura/d15ea59a-d9d1-4436-9f82-b84870d766ef?version=1.0)>. Acesso em: 20 agost. 2016.

10. Viana JG. Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil. Revista Ovinos. 2008; 4(12).

11. FAO, Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação.

Meat and meat products, 2007. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/010/ah864e/ah864e09.htm> >. Acesso em: 20 jun. 2016.

12. MAPA, Ministério da Agricultura e Pecuária. Mercado Interno. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/mercado-interno>>. Acesso em: 21 jun. 2016.

13. Sorio A. Carne ovina e caprina: produção e consumo no Brasil e nas Américas. 2010. Disponível em: <www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/ovinos-e-caprinos/carne-ovina-e-caprina-producao-e-consumo-no-brasil-e-nas-americas-62919n.aspx>. Acesso em: 21 agost. 2016.

14. Wright BB, Taub IA. Stored product quality: Open dating and temperature monitoring. In: FOOD STORAGE STABILITY. Taub, IA.; Singh, RP. (eds.). Boca Raton: CRC Press.1997; 353-368.

15. Campos VF. Controle da Qualidade Total (no estilo japonês). 3a.ed. Belo Horizonte-MG: Fundação Cristiano Ottoni. 1992; 220,.
16. Mori EEM. Determinação da vida-de-prateleira através da análise sensorial e correlações. In: Reações De Transformação E vida-de-prateleira de alimentos processados. Moura SCSR, Germer SPM. (ed.) Campinas: ITAL. 3ª ed. 2004. p. 63-83.
17. Netto FM. Determinação da vida-de-prateleira – Erros e limitações. In: Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados. Moura SCSR, Germer SPM. Campinas: ITAL. 3ª ed. 2004. p. 83-92.
18. Panea B, Ripoll G, Joy M. Caracterización y agrupamiento de algunos tipos comerciales de cordero por su perfil sensorial. ITEA – Información Técnica Económica Agraria. 2013;109(3): 303-318.
19. Zhao Y, Wells JH, Mcmillen KW. Application of dynamic modified atmosphere packaging systems for fresh red meats: Review. Journal of Muscle Foods. 1994; 5: 299–328.
20. Andersen HJ, Oksbjerg N, Young JF, Therkildsen M. Feeding and meat quality – a future approach. Meat Science. v.70, 2005; 3: 543–554.
21. Insani EM, Eyherabide A, Grigionia G, Sancho AM, Pensel NA, Descalzo AM. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. Meat Science. 2008; 79(3): 444–452.
22. Heras A, Schoch A, Gibis M, Fischler A. Comparison of methods for determining malonaldehyde in dry sausages by HPLC and the classic TBA

test. European Food Research and Technology, New York. 2003; 217: 180-184.

23. Santos PR. Qualidade dos músculos *Longissimus thoracis e lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte: influência da estocagem na atmosfera modificada e vácuo. Dissertação (Ciência e Tecnologia de Alimentos) Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz, Piracicaba SP; 2011. 168 f.

24. Thompson J. Managing meat tenderness. Meat Science. 2002; 62: 295-308.

25. Warner RD, Greenwood PL, Pethick DW, Ferguson DM. Genetic and environmental effects on meat quality. Meat Science, Barking. 2010; 86: 171-183.

26. Insausti K, Beriain MJ, Purroy A, Alberti P, Lizaso L, Hernandez B. Colour stability of beef from different Spanish native cattle breeds stored under vacuum and modified atmosphere. Meat Science, Barking. 1999; 53: 241-249.

27. Brody AL. Case-ready packaging for red meat. Food Technology, Oxford. 2007;61: 70-72,.

28. Ramos EM, Gomide LAM. Avaliação da qualidade de Carnes: fundamentos e metodologias. Viçosa: Editora UFV, 2007.

29. Cardoso GP, Dutra MP, Fontes PR, Ramos ALS, Gomide LAM, Ramos EM. Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display. Meat Science. 2016; 114: 85–94.

30. Assis OBG, Alves HC. Metodologia mínima para a produção de filmes comestíveis de quitosana e avaliação preliminar de seu uso como revestimento protetor em maçãs cortadas. *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*. 2002; 4(30): 33-38.
31. Bourtoom T. Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*. 2008;15(3).
32. Antoniewski MN, Barringer SA, Knipe CL, Zerby HN. Effect of a Gelatin Coating on the Shelf Life of Fresh. *Meat Journal of Food Science*. 2007; 72(6): 382–387.
33. Fernández-Pan I, Maite Royo M, Maté JI. Antimicrobial Activity of Whey Protein Isolate Edible Films with Essential Oils against Food Spoilers and Foodborne Pathogens, *Food Science*. 2012; 77 (7):383-390.
34. Kester JJ, Fenema OR. Edible films and coating: a review. *Food Technology*, Oxford. 1986; 40 (12): 47-59.
35. Kafetzoulos D, Martinov A, Bouriotis V, Muzzarelli RAA. Chitin Enzymology, *European Chitin Soc: Ancona*. 1993. 147 p.
36. Campos CA, Gerschenson LN, Flores SK. Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity. *Food and Bioprocess Technology*. 2011; 4(6): 849-875.
37. Airoidi CA. Relevante potencialidade dos centros básicos nitrogenados disponíveis em polímeros inorgânicos e biopolímeros na remoção catiônica *Quim. Nova*. 2008; 31(1): 144-153.

38. Campana-Filho SP, Britto D, Curti C, Abreu FR, Cardoso MB, Battisti MV, et al. Extração, estruturas e propriedades de α - e β -quitina. *Química Nova*. 2007; 30(3): 644-650.
39. Goosen MEA. Applications of chitin and chitosan. Technomic Publishing Company, Lancaster. 1996;61:3-29.
40. Moura C, Muszinski P, Schmidt C, Almeida J, Pinto L. Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri. *Vetor*, Rio Grande. 2006; 37-45.
41. Darmadji P, Izumimoto M. Effect of chitosan in meat preservation. *Meat Science*. 1994; 38(2): 243-254.
42. Jo C, Lee JW, Lee, KH, Byun MW. Quality properties of pork sausage prepared with water-soluble chitosan oligomer. *Meat Science*. 2001; 59(4): 369–375.
43. Azevedo VVC, Chaves SA, Bezerra DC, Lia Fook MV, Costa, ACFM. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*. 2007; 2(3): 27-34.
44. Rosa CG. Quitina e Quitosana: Aspectos gerais de obtenção e aplicações. Bacharelado em Química de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul; 2008. 33f.
45. Rinaudo M, Domard A. Solution properties of chitosan. *Chitin and Chitosan*, Kluwer. 1989. p. 71-86.
46. Koide SS. Chitin-chitosan: Properties, benefits and risks. *Nutrition Research*. 1998; 18(6): 1091-110.

47. Ravi Kumar MNV. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*. 2000; 46(1): 1–27.
48. Li-Feng Q, Zi-Rong X, Yan L, Xia J, Xin-Yan H. In vitro effects of chitosan nanoparticles on proliferation of human gastric carcinoma cell line MGC803 cells. *World Journal Of Gastroenterology*. 2005;11(33): 5136-5141.
49. Fernandes CP, Corrêa TRA, Filho, RB. Preparação de filmes de zeína com adição de nanofibras de celulose. In: III Jornada Científica - Embrapa São Carlos; 2011; São Carlos. São Carlos: Anais da III Jornada Científica; 2011. p. 68.
50. Duarte JO, Garcia JC, Miranda RA. Mercado e comercialização. In: Cruz JC. (Ed.). *Cultivo do milho*. 7. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011.
51. Forato LA, Briito D, Scramin JA, Colnago LA, Assis OBG. Propriedades mecânicas e molhabilidade de filmes de zeínas extraídas de glúten de milho. *Polímeros*. 2013; 23(1): 42-48.
52. Forato LA, Yushmanov VE, Colnago LA. Interaction of Two Prolamins with 1-¹³C Oleic Acid by ¹³C NMR. *Biochemistry*. 2004 Maio 12; 43(22): 7121–7126.
53. Tavares LL, Almeida CB, Caruso IP, Cornélio ML, Filho JFL. Effect of modified clays on the structure and functional properties of biofilms produced with zein. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas. 2012 Maio 29; 32(2): 314-322.

54. Buffo RA, Han JH. Edible films and coatings from plant origin proteins. In: Han JH, editor. *Innovations in Food Packaging*. 1st ed. London: Elsevier Academic Press; 2005. p. 277-300.
55. Banker GS. Film coating – theory and practice. *Journal of Pharmaceutical Science*, Kidlington Oxford. 1966; 55(1): 81-89.
56. Viecegli NC, Lovatel ER, Cardoso EM, Filho IN. Quantitative analysis of plasticizers in a wastewater treatment plant: influence of the suspended solids parameter. *J. Braz. Chem. Soc.* 2011; 22(6): 1150 -1155.
57. Resmuñan López C, Bodmeier R. *Journal of Controlled Release*. 1997; 44: 215225.
58. Britto D, Campana Filho SP, Assis OBG. Mechanical Properties of N,N,N-trimethylchitosan Chloride Films. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, São Carlos. 2005; 15(2): 129-132.
59. García MA, Martino MN, Zaritzky NE. Edible Starch Films and Coatings Characterization: Scanning Electron Microscopy, Water Vapor, and Gas Permeabilities. *Scanning*. 1999; 21(5):348-53.
60. García MA, Martino MN, Zaritzky NE. Lipid Addition to Improve Barrier Properties of Edible Starch-based Films and Coatings. *Journal of Food Science*. 2000; 65(6):941-7.
61. Arvanitoyannis I, Billiaderis CG, Ogawa H, Kawasaki N. Biodegradable films made from low-density polyethylene (LDPE), rice starch and potato starch for food packaging applications: Part 1. *Carbohydrate Polymers*. 1998; 36: 89–104.

62. Alves HC. Avaliação do efeito de revestimento de quitosana na conservação de carne bovina resfriada e embalada à vácuo. Tese (Biotecnologia) Universidade Federal de São Carlos, São Carlos SP; 2016. 73 f.
63. Hamm R. Functional properties of the miofibrillar system and their measurement. In: Bechtel PJ. (Ed.). Muscle as food. Orlando: Academic Press. 1986; 135-199.
64. Vyncke BW. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. Fette Seifen Anstrichmittel, Leinfelden-Echterdingen. 1970; 72: 1084-1087.
65. Vyncke BW. Evaluation of direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus L.*) Fette Seifen Anstrichmittel, Leinfelden-Echterdingen. 1975; 72: 239-240.
66. Sørensen G, Jørgensen SS. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products, European Food Research & Technology. 1996; 202 (3): 205-210.
67. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Approved Standard – Eighth Edition. Pennsylvania USA, 2003. NCCLS Documento M2-A8, 23 (1)(ISBN 1-56238-485-6).
68. 3M. Petrifilm: Placas para contagem de *Escherichia coli*. Instrução de uso. 3M do Brasil Ltda. Microbiologia. St Paul, MN 55144-1000.
69. NERO, L. A.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; ORTOLANI, M. B. T.; TAMANINI, R.; FRANCO, B. D. G. M. Comparison of petrifilm aerobic count plates and the Man-Rugosa-Sharpe agar for enumeration of lactic acid

bacteria. *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*, Oklahoma. 2006; 14 (2): 249-257.

70. Bennett RW. *Staphylococcus aureus*. In: FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bacteriological analytical manual. FDA/CFSAN, Jan. 2001.

71. Rhodehamel EJ, Harmon SM. *Clostridium*. In: FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bacteriological analytical manual. FDA/CFSAN, Jan. 2001.

72. Sobrinho AGS, Purchas RW, Kadim IT, Yamamoto SM. Características de Qualidade da Carne de Ovinos de Diferentes Genótipos e Idades ao Abate. *R. Bras. Zootec.* 2005; 34(3): 1070-1078.

73. Sañudo C, Enser ME, Campo MM. Fatty acid composition and sensory characteristic of lamb carcasses from Britain and Spain. *Meat Science*. 2000; 54: 339-346.

74. García-Esteban, M. et al. Optimization of instrumental color analysis in dry-cured ham. *Meat Science*. 2003; 63(3): 287-292.

75. Zeola NMBL, Souza PA, Souza HBA, Silva Sobrinho AG, Barbosa JC. Cor, capacidade de retenção de água e maciez da carne de cordeiro maturada e injetada com cloreto de cálcio. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2007; 59(4): 1058-1066.

76. Simões JA, Ricardo R. Avaliação da cor da carne tomando como referência o músculo rectus abdominis, em carcaças de cordeiros leves. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. 2000; 95(535):124-127.

77. Renerre M, Labadie J. Fresh red meat packaging and meat quality. In Proceedings 39th international congress of meat science and technology; 1993; Calgary, Canada; 1993. pp. 361–387.
78. Pardi MC, Santos IF, Souza ER. et al. Ciência, higiene e tecnologia da carne. 2.ed. Goiânia: UFG, 2001. 623 p.
79. Monsón F, Sañudo C, Surre I. Influence of cattle breed and ageing time on textural meta quality. Meat Science. 2004; 68: 565-602.
80. Koochmaraie M, Kent MP, Shackelford SD, Veiseth V, Wheeler TL. Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? Meat Science. 2002 Abril 22; 62: 345-352.
81. Zapata JFF, Seabra LMJ, Nogueira CM. Estudo da qualidade da carne ovina do nordeste brasileiro: propriedades físicas e sensoriais. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas. 2000; 20(2): 274-277.
82. Gularte MA, Treptow RO, Pouey JLF, Osório JC. Idade e sexo na maciez da carne de ovinos da raça corriedale. Ciência Rural. 2000; 30 (3): 485-488.
83. Linares MB et al. Lipid oxidation in lamb meat: Effect of the weight, handling previous slaughter and modified atmospheres. Meat Science. 2007; 76: 715–720.
84. Limbo S et al. Evaluation and predictive modeling of shelf life of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures. Meat Science. 2010; 84(1): 129-136.
85. Fernandes RPP et al. Estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de carne ovina embalada a vácuo estocada sob refrigeração. Ciência Rural. 2012; 42(4):724-729.

86. Cifuni GF et al. Effect of age at slaughter on carcass traits, fatty acid composition and lipid oxidation of Apulian lambs. *Small Ruminant Research*. 2000; 35: 65-70.
87. Shan B. et al. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53 (20): 749-775.
88. Waszkowiak K. Antioxidative activity of rosemary extract using connective tissue proteins as carriers. *International Journal of Food Science and Technology*. 2008; 43 (8): 1437-1442.
89. Viuda-Martos M, Najaras YR, Zapata ES, Fernández-Lopes J, Pérez-Álvarez JA. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and fragrance journal*. 2010; 25(1):13-19.
90. Uliana MP, Fronza M, Silva AG, Vargas TS, Andrade TU, Scherer R. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. *Industrial Crops and Products* 2016; 83: 235-240.
91. Gonzalez-Aguilar GA, Robles-Sanchez RM, MartinezTellez MA, Olivas, GI, Alvarez-Parrilla E, de la Rosa L. Bioactive compounds in fruits: health benefits and effect of storage conditions. *Stewart Postharvest Review*. 2008; 4(3): 1-10.

92. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*. 2004; 94 (3): 223-253.
93. Devine CE, Graafhuis AE, Muir PD, Chrystall BB. The effect of growth rate and ultimate pH on meat quality of lambs. *Meat Science*. 1993; 35 (1): 63-77.
94. Andres C. Edible films have potencial for significantly improving aesthetic and nutritional content of foods. *Food Processing*. 1985; 46 (7):102-106.
95. Terra NN, Cichoski AJ, Freitas RJS. Valores de nitrito e de TBARs durante o processo e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada. *Ciência Rural*, Santa Maria. 2006; 36 (3): 965-970.
96. Noble AC. Taste – aroma interactions. *Trends in Food Science e Technology*, Cambridge.1996; 7: 439-443.
97. Roça RO. Alternativas de aproveitamento da carne ovina. *Revista Nacional da Carne*. 1993; 18 (201): 53-60.
98. Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001. Brasil. Aprova o regulamento técnico princípios gerais para estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos e seus anexos I, II e III. *Diário Oficial*. Brasília, 1 de janeiro de 2001.

99. Karabagias I, Badeka A, Kontomina MG. Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat Science*. 2011; 88 (1): 109-116.
100. Gill CO. Extending the storage life of raw chilled meats. *Meat Science*. 1996; 43 (1): 99-109.

ANEXO I

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Resolução 466/2012 do CNS)**

Você está sendo convidado para participar da pesquisa "Análise sensorial de carne em embalagem ativa"

O objetivo deste estudo é determinar a qualidade sensorial da carne bovina/ovina em embalagem ativa bem como a intenção de compra dos consumidores de acordo com informações contidas no rótulo

Você foi selecionado e sua participação não é obrigatória.

Você pode recusar ou desistir do teste sensorial a qualquer momento, sendo que não sofrerá nenhum dano, bem como não terá nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição.

Sua participação nesta pesquisa consistirá em realizar o teste sensorial conforme instruções, envolvendo ingestão de carne bovina ou ovina assada. Informamos que para garantir a segurança microbiológica do produto serão tomadas as seguintes providências: 1. Os animais serão abatidos em estabelecimento comercial, com inspeção estadual ou federal, assegurando a segurança alimentar, bem como boas práticas na obtenção dos produtos; 2. As amostras serão armazenadas sob congelamento a -18°C. Para análise sensorial as amostras serão descongeladas em geladeira desde o dia anterior, e no dia seguinte serão cortadas, cozidas em um forno pré-aquecido a 180°C até à temperatura interna de 75°C, assegurando a qualidade/segurança da mesma; 3. Para evitar risco de contaminação durante o período de armazenamento e preparo serão tomadas providências de padrão de higiene já praticadas no manuseio das amostras de alimentos. As amostras serão armazenadas em condições adequadas, evitando a deterioração e possíveis alterações das características microbiológicas, físicas, químicas e sensoriais.

- Caso sinta-se desconfortável em responder o questionário você pode encerrar sem prejuízos;
- As informações fornecidas na pesquisa serão utilizadas única e exclusivamente para fins de pesquisa e a identidade e qualquer dado pessoal dos respondentes será mantida em sigilo.
- Caso tenha qualquer dúvida estaremos a postos para esclarecimentos.

Quanto aos benefícios, informamos que os dados obtidos serão utilizados para fornecer informações que contribuam para a pesquisa no que se refere à qualidade sensorial da carne bovina e ovina, o que auxiliará na escolha de tecnologias que possam fornecer carne de qualidade aos consumidores. As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação.

Não haverá ressarcimento de despesas pelo seu tempo para responder a este questionário.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar. O pesquisador me informou que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UFSCar que funciona na Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos, localizada na Rodovia Washington Luiz, Km. 235 - Caixa Postal 676 - CEP 13.565-905 - São Carlos - SP – Brasil. Fone (16) 3351-8110. Endereço eletrônico: cephumanos@ufscar.br

Endereço para contato (24 horas por dia e sete dias por semana):

Pesquisadora Responsável: Renata Tieko Nassu, R.G. 15.158.217
Embrapa Pecuária Sudeste
Rodovia Washington Luiz, km 234 – Fazenda Canchim, C.P. 339 – São Carlos – SP
Telefone: 16-3411-5681

Local e data: SÃO CARLOS, _____

RENATA TIEKO NASSU	
Nome do Pesquisador	Assinatura do Pesquisador
Nome do Participante (LEGIVEL)	Assinatura do Participante

ANEXO II

NOME: _____ DATA: _____

Você está recebendo uma amostra controle (C) e três amostras codificadas de carne ovina. Prove a amostra controle e em seguida prove cada uma das amostras codificadas e avalie, utilizando a escala abaixo, o quanto cada amostra difere, em termos globais, da amostra padrão.

0 = nenhuma diferença

1 = Diferença muito ligeira

2 = Diferença ligeira/ moderada

3 = Diferença moderada

4 = Diferença moderada/grande

5 = Diferença grande

6 = Diferença muito grande

Comentários (opcional): _____

Nº da amostra	Valor

ANEXO III

Tabela 3. Lista dos termos levantados e suas respectivas referências na análise quantitativa da carne ovina

Aroma		
Atributo – Aroma	Definição	Referências/Extremos
Aroma característico de carne ovina	Aroma característico relacionado à espécie animal	Suave: Contra filé ovino embebido em água destilada por 3 horas assado a 75°C
		Intenso: Contra filé ovino assado a 75°C
Aroma estranho	Percepção de aroma diferente do característico	Nenhum: Lombo ovino sem revestimento Intenso: Contra filé ovino revestido com zeína 4%
Sabor		
Atributo – Sabor	Definição	Referências/Extremos
Sabor característico de carne ovina	Sabor característico relacionado à espécie animal	Suave: Contra filé ovino embebido em água destilada por 3 horas assado a 75°C
		Intenso: Lombo ovino assado a 75°C
Sabor estranho	Percepção de sabor diferente do característico	Nenhum: Lombo ovino sem revestimento Intenso: Lombo ovino revestido com quitosana (formulação normal) e lombo ovino com zeína 4 e 8%
Textura		
Atributo – Textura	Definição	Referências/Extremos
Maciez	Propriedade de textura que oferece pouca resistência à mastigação, variando de duro a macio	Macia: Bife de File mignon bovino assado a 65°C
		Dura: Coxão duro bovino assado a 75°C
Suculência	Umidade percebida pela presença de sucos durante a mastigação	Suculenta: Bife de File mignon bovino assado a 65°C
		Seca: Coxão duro bovino assado a 75°C

ANEXO IV

NOME: _____ DATA: _____

Você vai provar carne ovina. Utilize as escalas abaixo para avaliar os atributos de aroma e sabor característico de carne ovina, aroma e sabor estranho, maciez e suculência.

AMOSTRA Nº _____

AROMA CARACTERÍSTICO DE CARNE OVINA <input type="checkbox"/> Extremamente intenso <input type="checkbox"/> Muito intenso <input type="checkbox"/> Moderadamente intenso <input type="checkbox"/> Ligeiramente intenso <input type="checkbox"/> Nem intenso nem suave <input type="checkbox"/> Ligeiramente suave <input type="checkbox"/> Moderadamente suave <input type="checkbox"/> Muito suave <input type="checkbox"/> Extremamente suave	INTENSIDADE AROMA ESTRANHO <input type="checkbox"/> Extremamente intenso <input type="checkbox"/> Muito intenso <input type="checkbox"/> Moderadamente intenso <input type="checkbox"/> Ligeiramente intenso <input type="checkbox"/> Nem intenso nem suave <input type="checkbox"/> Ligeiramente suave <input type="checkbox"/> Moderadamente suave <input type="checkbox"/> Muito suave <input type="checkbox"/> Nenhum
SABOR CARACTERÍSTICO DE CARNE OVINA <input type="checkbox"/> Extremamente intenso <input type="checkbox"/> Muito intenso <input type="checkbox"/> Moderadamente intenso <input type="checkbox"/> Ligeiramente intenso <input type="checkbox"/> Nem intenso nem suave <input type="checkbox"/> Ligeiramente suave <input type="checkbox"/> Moderadamente suave <input type="checkbox"/> Muito suave <input type="checkbox"/> Extremamente suave	INTENSIDADE SABOR ESTRANHO <input type="checkbox"/> Extremamente intenso <input type="checkbox"/> Muito intenso <input type="checkbox"/> Moderadamente intenso <input type="checkbox"/> Ligeiramente intenso <input type="checkbox"/> Nem intenso nem suave <input type="checkbox"/> Ligeiramente suave <input type="checkbox"/> Moderadamente suave <input type="checkbox"/> Muito suave <input type="checkbox"/> Nenhum
MACIEZ <input type="checkbox"/> Extremamente macia <input type="checkbox"/> Muito macia <input type="checkbox"/> Moderadamente macia <input type="checkbox"/> Ligeiramente macia <input type="checkbox"/> Nem macia nem dura <input type="checkbox"/> Ligeiramente dura <input type="checkbox"/> Moderadamente dura <input type="checkbox"/> Muito dura <input type="checkbox"/> Extremamente dura	SUCULÊNCIA <input type="checkbox"/> Extremamente suculenta <input type="checkbox"/> Muito suculenta <input type="checkbox"/> Moderadamente suculenta <input type="checkbox"/> Ligeiramente suculenta <input type="checkbox"/> Nem suculenta nem seca <input type="checkbox"/> Ligeiramente seca <input type="checkbox"/> Moderadamente seca <input type="checkbox"/> Muito seca <input type="checkbox"/> Extremamente seca

OBSERVAÇÕES:
