

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica  
Área de Tecnologia de Alimentos

Potencialidades da succinil quitosana como emulsificante e substituto de fração lipídica em massa de bolo

Raquel Vallerio Rios

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutora em Ciências.

Orientadora:  
Profa. Dra. Suzana Caetano da Silva Lannes

São Paulo  
2018

RAQUEL VALLERIO RIOS

Potencialidades da succinil quitosana como emulsificante e substituto de fração lipídica em massa de bolo

**Versão Original**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutora em Ciências.

Área de concentração: Tecnologia de Alimentos

Orientadora:

Profa. Dra. Suzana Caetano da Silva Lannes

São Paulo  
2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:  
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

R586p	Rios, Raquel Vallerio Potencialidades da succinil quitosana como emulsificante e substituto de fração lipídica em massa de bolo / Raquel Vallerio Rios. - São Paulo, 2018. 155 p. + Anexos  Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica. Orientador: Lannes, Suzana Caetano da Silva  1. Panificação. 2. Bolos. 3. Substituto de gordura. 4. Succinil quitosana. 5. Emulsificante. I. T. II. Lannes, Suzana Caetano da Silva, orientador.
-------	---

RAQUEL VALLERIO RIOS

Potencialidades da succinil quitosana como emulsificante e substituto de fração lipídica em massa de bolo

Comissão Julgadora  
da  
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Suzana Caetano da Silva Lannes  
orientador/presidente

---

1º examinador

---

2º examinador

---

3º examinador

São Paulo, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2018.

*Gostaria de dedicar esta tese à minha mãe Maria de Fátima Vallerio Rios, que sempre se esforçou para que eu pudesse ter uma educação digna e buscasse o melhor para o meu caminho pessoal e profissional. À minha avó Abilina Cordeiro Vallerio pelo apoio e à minha gata Pita pelo companheirismo de sempre.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus e a todos os “amigos” espirituais pela saúde, proteção e paciência me dada durante todo este percurso.

Agradeço ao meu maior companheiro, Luís Henrique Ferreira de Moraes, do qual a vida me presenteou nessa jornada. Te agradeço pelo apoio, compreensão e paciência em todos os momentos desta tese, sempre me inspirando e me fazendo acreditar em mim mesma. AVE.

À Professora Suzana C. S. Lannes por mais uma vez confiar em mim, me dando mais uma oportunidade de trabalharmos juntas, me apoiando e me ajudando em meu crescimento tanto profissional quanto pessoal. Serei sempre grata.

À minha mãe, minha avó, meus irmãos (as), cunhados e à todos de minha família que me apoiaram nesta trajetória, mesmo não entendendo muito o que eu faço (rsrs)

Às irmãs que ganhei ao longa da minha vida Ludmila Cristina Baldi Rodrigues Moreno, Bruna Baldi, Julliana Cajado, Gabriella V. Stoque, Alline Moreno, Gabriela Leal, e tantos outros (as) que sempre, sempre estiveram ao meu lado com muito amor e paciência.

Aos meus colegas da FCF Poliana Almeida, Beatriz Valcárcel, Ingrydi Campos, Natália Marchesan, Simone Tessarini, Rodrigo, Wilson Buenos Ayres, Renato Pina e aos ICs, estando alguns presentes ou não, pelo companheirismo no dia a dia, nos momentos de dúvidas e elucidações, nas conversas informais, nos cafés, nos almoços do bandeirão, e principalmente pelo suporte nesta reta final.

Aos funcionários do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da FCF, Tânia, Rose, Elza, Nilton, Alexandre e Ivani pelo apoio, pela paciência, e por todos os momentos de descontração durante os cafezinhos.

A todos os docentes os quais tive o prazer de conhecer tanto das disciplinas realizadas como na convivência do dia a dia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela bolsa de estudos concedida durante estes quatro anos. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa PDSE à qual realizei o doutorado sanduíche em Valência, Espanha.

Agradezco la Dra. Cristina M. Rosell por la oportunidad de colaboración el laboratorio de Cereales, del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (Valencia, Espanha), a los cuales soy muy grata.

A mis compañeros de laboratorio Raquel Garzón, por la colaboración, Yaiza, Cristina, a la técnica Marivi que me recibió recibido con mucha paciencia y dedicación, y a todos los demás compañeros.

Agradezco inmensamente las nuevas amistades: Johanan, Eugenia y Lillian que estuvieron a mi lado en los momentos más fantásticos y inolvidables durante nuestra estancia en una de las ciudades más sensacionales de Espanha.

Y por último a los Hermanitos Zamenhof que la vida me regaló. Lucía Saez y Robert March vosotros habéis sido simplemente mis mejores compañeros de piso. Agradezco por toda la hospitalidad, por todos los momentos felices y tristes, por los vinos valencianos (solo un poquito), por los paseos turísticos, por los cafés de todas las mañanas y por todas las cenas más ricas de todas las noches (Bereberebere). Pasta y Huevo.

*“Deus nos conceda, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo.*

*Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta.”*

*Chico Xavier*

## RESUMO

RIOS, R. V. **Potencialidades da succinil quitosana como emulsificante e substituto de fração lipídica em massa de bolo.** 2018. 155 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

A necessidade da criação de produtos inovadores com características funcionais está relacionada com a demanda de consumidores que priorizam o bem-estar vinculado a uma alimentação saudável e equilibrado. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da adição de succinil quitosana (SQ) como um substituto da fração lipídica e agente emulsificante sobre a qualidade de bolos. Para tanto, no capítulo 1 foi realizado um levantamento conciso da literatura para a compreensão dos temas abordados. No capítulo 2, o estudo da SQ se baseou na sua obtenção e caracterização para aplicação em bolos. A análise de infravermelho e difração de raio X validaram as reações de desacetilação e succinilação, sendo que os estudos térmicos demonstraram estabilidade térmica (acima de 300 °C) viabilizando a utilização da SQ em produtos de panificação. A aplicação da suspensão de SQ (2,0 g/100 g) em massas de bolos com níveis reduzidos de gordura (0 % (controle), 25 %, 50 %, 75 % e 100 % (ausência total de gordura)) com ajustes na quantidade de água, para adaptação das consistências das massas, resultou em massas de bolos com parâmetros de viscosidade semelhantes. A redução de gordura até um nível de 50 % e presença de SQ contribuiu para o aumento da área 2D (de 13, 83 para 19,05 mm<sup>2</sup>) e razão largura/altura, além da umidade e atividade de água. A SQ influenciou significativamente ( $p < 0,05$ ) na vida de prateleira, visto que a taxa de endurecimento foi de 27,8 (N/dia) para os bolos controle, e em bolos com nível de 25 % apresentou o valor de 26,1 (N/dia) e 49,2 (N/dia) para aqueles com presença total de SQ. Os teores de lipídeos diminuíram significativamente ( $p < 0,05$ ), embora o conteúdo total de minerais e proteínas tenham apresentado ligeiras variações. Em relação à análise sensorial, foram atribuídas aos bolos com redução de até 50 % de gordura notas entre 6 e 7, e àqueles com 75 % de redução, nota inferior para os atributos de textura, sabor e aspecto geral. Dos provadores, 35 % “provavelmente comprariam” os bolos com 50 % de gordura. Nesse sentido, a SQ pode ser considerada um potencial substituto de gordura em bolos, podendo-se reduzir à metade a quantidade deste ingrediente em sua formulação original, agregando qualidades tecnológicas, sensoriais e nutricionais a esses produtos.

Palavras-chave: Massas de bolo, derivados de quitosana, substituição de gordura, subproduto do krill

## ABSTRACT

RIOS, R. V. **Potentialities of succinyl chitosan as emulsifier and lipid fraction substitute on cake batter**. 2018. 155p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

The need to create innovative products with functional characteristics is related to the demand of consumers which prioritize the well-being combined to a healthy and balanced diet. In this sense, the objective of this study was to evaluate the effects of the addition of succinyl chitosan (SQ) as an emulsifying agent and lipid fraction substitute on the qualities of cakes. Therefore, in chapter 1 a concise survey of the literature was carried out to understand the themes covered. In chapter 2, the SQ study was based on its obtaining and characterization for application in cakes. Infrared analysis and X-ray diffraction validated the deacetylation and succinylation reactions, and the thermal studies demonstrated thermal stability (above 300 °C), allowing the use of SQ in bakery products. The application of SQ suspension (2.0 g / 100 g) with reduced levels of fat (0 % (control), 25 %, 50 %, 75 % and 100 %) adjusting the amount of water, to adapt the batter's consistencies, resulted in cakes with similar viscosity parameters. The reduction of fat up to 50 % and presence of SQ contributed to the increase of the 2D area (from 13,83 to 19,05 mm<sup>2</sup>) and width / height ratio, as well as moisture and water activity. SQ significantly influenced (p <0.05) shelf life, since the hardening rate was 27,8 (N / day) for control cakes, and in cakes with a 25% level the value was 26,1 (N / day) and 49.2 (N / day) for those with total presence of SQ. The lipid contents decreased significantly (p <0.05), although the total content of minerals and proteins showed slight variations. Regarding sensory analysis, scores between 6 and 7 were attributed to cakes with a fat reduction of up to 50%, and those with a 75% reduction were attributed a lower score, according to the attributes of texture, taste and overall appearance. From consumers, 35% "I would probably purchase" the cakes with 50% fat. In this sense, SQ may be considered a potential substitute for fat in cakes, and it can reduce the amount of this ingredient by half in its original formulation, adding technological, sensorial and nutritional qualities to these products.

Key words: Cake batter, chitosan derivatives, fat replacement, krill byproduct

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1

Figura 1. Típico bolo muffin .....	32
Figura 2. Exemplos de <i>muffins</i> no mercado brasileiro .....	33
Figura 3. Representação dos estágios de batimento da massa .....	35
Figura 4. Micrografias de massas de bolos com gordura (1ª imagem), e sem gordura (2ª imagem) .....	37
Figura 5. Krill Antártico ( <i>Euphausia superba</i> ) .....	43
Figura 6. Estrutura química da molécula de quitina (A) e da quitosana (B), após o processo de desacetilação .....	46
Figura 7. Estrutura molecular da N-succinil quitosana .....	50

### Capítulo 2

Figura 1. Quitina desidratada do krill Antártico ( <i>Euphausia superba</i> ) .....	66
Figura 2. Desacetilação, lavagem em água destilada e filtração da quitosana .....	67
Figura 3. Etapas da síntese de succinilação da quitosana.....	67
Figura 4. Succinil quitosana após o processo de secagem do etanol .....	68
Figura 5. Espectro vibracional obtido por ATR FTIR ( <i>Attenuance Total Reflectance - Fourier Transformed Infrared</i> ) na amostra de quitina .....	73
Figura 6. Espectro vibracional obtido por ATR FTIR ( <i>Attenuance Total Reflectance - Fourier Transformed Infrared</i> ) na amostra de quitosana .....	74
Figura 7. Espectro vibracional obtido por ATR FTIR ( <i>Attenuance Total Reflectance - Fourier Transformed Infrared</i> ) na amostra de succinil quitosana .....	75
Figura 8. Difração de raios X das amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana. ....	77

Figura 9. Curvas de TG, DTG e DTA da quitina do krill Antártico.....	79
Figura 10. Curvas de TG, DTG e DTA da quitosana do krill Antártico.....	80
Figura 11. Curvas de TG, DTG e DTA da amostra de succinil quitosana.....	81
Figura 12. Curvas de DSC para as amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana sob atmosfera inerte (nitrogênio – vazão de gás 10 cc/min).....	85

### Capítulo 3

Figura 1. Fluxograma do processo de preparação dos bolos.....	98
Figura 2. Curva típica da análise de RVA, em função da viscosidade, da temperatura e do tempo, mostrando os principais parâmetros usados para descrever as propriedades de pasta.....	100
Figura 3. Perfil da viscosidade de pasta das massas de bolos com níveis reduzidos de gordura contendo succinil quitosana. ....	106
Figura 4. Imagens capturadas dos cortes longitudinal e transversal dos <i>muffins</i> com diferentes níveis de redução da gordura (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) contendo succinil quitosana.....	112

### Capítulo 4

Figura 1. Relação entre o teor de umidade (%) e carboidratos (%) a partir da análise centesimal de <i>muffins</i> com SQ.....	139
Figura 2. <i>Muffins</i> produzidos para análise sensorial.....	142
Figura 3. Intenção de compra de provadores na análise sensorial de <i>muffins</i> com reduzido teor de gordura e adição de succinil quitosana.....	144

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 2

- Tabela 1. Solubilidade da quitina, quitosana e succinil quitosana em diferentes meios.....72
- Tabela 2. Valores calculados a partir das curvas de TG, DTG e DTA para amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana com taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de nitrogênio .....82
- Tabela 3. Parâmetros da análise de DSC para as amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana em taxa de aquecimento de 20°C/min em atmosfera de nitrogênio.....84

### Capítulo 3

- Tabela 1. Ingredientes utilizados nas formulações de bolos com reduzido teor de gordura e adição de succinil quitosana .....97
- Tabela 2. Propriedades emulsificantes de misturas de succinil quitosana e farinha de trigo ..... 104
- Tabela 3. Efeitos da succinil quitosana nas propriedades de pasta e densidade das massas de bolos obtidas com diferentes níveis de redução de gordura..... 107
- Tabela 4. Efeitos da redução de gordura nas propriedades morfogeométricas e na cor de bolos contendo succinil quitosana. ....111
- Tabela 5. Influência da SQ em *muffins* com diferentes níveis de redução de gordura na umidade e na atividade de água..... 114
- Tabela 6. Efeitos da redução de gordura na textura e nas taxas de endurecimento e secagem dos bolos contendo succinil quitosana ..... 117

### Capítulo 4

- Tabela 1. Composição físico-química de *muffins* com reduzido teor de gordura contendo succinil quitosana ..... 137

<b>Tabela 2. Resultados dos atributos sensoriais do teste de aceitabilidade (escala hedônica de 1 – 9 pontos) .....</b>	<b>140</b>
<b>Tabela 3. Escala de intenção de compra (de 1 a 5 pontos) para <i>muffins</i>.....</b>	<b>143</b>

## LISTA DE QUADROS

### Capítulo 2

Quadro 1. Lista de materiais e equipamentos para sínteses de quitosana e succinil quitosana.....	65
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica

ABIMAPI – Associação Brasileira das Indústrias de Biscoitos, Massas Alimentícias & Pães e Bolos Industrializados

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATR-FTIR - *Attenuance Total Reflectance - Fourier Transformed Infrared*

DRX – *Diffraction ray X*

DSC - *Differential Scanning Calorimeter*

DTA - *Differential Thermoanalysis*

DTG - *Derivative Thermogravimetric*

FCF – Faculdade de Ciências Farmacêuticas

FDA - *Food and Drug Administration*

GD - Grau De Desacetilação

GS – Grau de Substituição

INC – Informação Nutricional Complementar

IQ - Instituto de Química

MERCOSUL – Mercado Comum do Sul

MS – Ministério da Saúde

OMS - Organização Mundial da Saúde

O / W – *Oil / Water*

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

SQ – Succinil quitosana

TG - Termogravimetria

TPA – *Texture Profile Analysis*

USP – Universidade de São Paulo

W / O – *Water / Oil*

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\alpha$  – Alpha

$\beta$  - Beta

$\beta'$  – Beta prima

$\gamma$  – Gama

$\theta$  - Theta

$^{\circ}\text{C}$  – Grau Celsius

$\Delta\text{H}$  – Variação de Entalpia

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO .....	23
CAPÍTULO 1 .....	29
<b>ABORDAGEM DOS TEMAS: MASSAS DE BOLOS, SUBSTITUTOS DE GORDURA E SUCCINIL QUITOSANA .....</b>	<b>29</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>31</b>
<b>1.1 Panificação.....</b>	<b>31</b>
<b>1.2. <i>Muffins</i>.....</b>	<b>32</b>
<b>1.3 Estrutura da massa de bolo .....</b>	<b>34</b>
<b>1.4. A gordura e seu papel na estruturação de bolos .....</b>	<b>36</b>
<b>1.5 Hidrocolóides e aplicação na panificação .....</b>	<b>39</b>
<b>1.6 Krill Antártico (<i>Euphausia superba</i>) - Fonte de quitina -.....</b>	<b>41</b>
<b>1.7 Quitina, quitosana e succinil quitosana .....</b>	<b>43</b>
1.7.1 Panorama da quitosana .....	44
1.7.2 Características e propriedades da quitina e quitosana .....	46
1.7.3 Succinil quitosana .....	49
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>53</b>
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>61</b>
<b>SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SUCCINIL QUITOSANA A PARTIR DO KRILL ANTÁRTICO (<i>EUPHAUSIA SUPERBA</i>) .....</b>	<b>61</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>63</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>65</b>
<b>2.1. Materiais .....</b>	<b>65</b>
<b>2.2. Métodos.....</b>	<b>65</b>
2.2.1 <i>Obtenção da quitina</i> .....	65
2.2.2 <i>Obtenção de quitosana e succinil quitosana</i> .....	66

<b>2.3 Caracterizações dos polímeros</b> .....	<b>68</b>
2.3.1 Teste de solubilidade .....	68
2.3.2 Grau de substituição (GS) da succinil quitosana .....	68
2.3.3 Espectroscopia no infravermelho e grau de desacetilação.....	69
2.3.4 Difração de raios X - DRX.....	69
2.3.5 Análises térmicas - TG/DTG/DTA e DSC.....	70
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>71</b>
<b>3.1 Solubilidade dos polímeros em diferentes meios</b> .....	<b>71</b>
<b>3.2. Cálculo do grau de substituição da succinil quitosana</b> .....	<b>72</b>
<b>3.3. Espectroscopia na região do infravermelho</b> .....	<b>72</b>
3.3.1. Cálculo do grau de desacetilação da quitosana .....	76
<b>3.4. Difração de raios X (DRX)</b> .....	<b>77</b>
<b>3.5. Propriedades térmicas dos polímeros</b> .....	<b>78</b>
3.5.1 Análises de TG, DTG e DTA dos polímeros.....	79
3.5.2. Calorimetria diferencial exploratória - DSC .....	83
<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	<b>86</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>87</b>
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>91</b>
<b>USO DE SUCCINIL QUITOSANA COMO UM SUBSTITUTO DE GORDURA EM FORMULAÇÕES DE BOLOS</b> .....	<b>91</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>93</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>96</b>
2.1 Materiais .....	96
2.2 Métodos.....	96
2.2.1 Preparação da succinil quitosana e caracterização.....	96
2.2.2 Propriedades emulsificantes .....	96
2.2.3 Preparação da massa.....	97

<b>2.3 Caracterizações das massas dos bolos</b> .....	<b>99</b>
2.3.1 <i>Rapid Visco Analyser (RVA)</i> .....	99
2.3.2 Densidade .....	101
<b>2.4. Caracterizações dos muffins com reduzido teor de gordura contendo SQ</b> .....	<b>101</b>
2.4.1 <i>Análise de textura (Texture Profile Analysis - TPA)</i> .....	101
2.4.2 <i>Umidade e atividade de água</i> .....	101
2.4.3 <i>Cor (L*, a*, b*)</i> .....	102
2.4.4 <i>Análises morfogeométricas dos bolos</i> .....	102
<b>2.5. Análise estatística</b> .....	<b>103</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>104</b>
<b>3.1. Propriedades emulsificantes</b> .....	<b>104</b>
<b>3.2. Comportamento de pasta e densidade das massas de bolos contendo SQ</b> .....	<b>105</b>
<b>3.3 Propriedades físicas dos bolos</b> .....	<b>109</b>
3.3.1. <i>Efeitos da redução de gordura nas características morfogeométricas</i> .....	109
<b>3.4. Efeitos da redução de gordura na umidade e na atividade de água dos muffins contendo SQ</b> .....	<b>113</b>
3.5. Efeitos da redução de gordura nos parâmetros de textura (TPA).....	114
<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	<b>118</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>119</b>
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>123</b>
<b>COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO SENSORIAL DE MUFFINS CONTENDO SUCCINIL QUITOSANA</b> .....	<b>123</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>125</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>131</b>
<b>2.1 Ingredientes</b> .....	<b>131</b>
<b>2.2. Composição centesimal</b> .....	<b>131</b>
2.2.1. Umidade e resíduo mineral total (cinzas) .....	132

2.2.2. Lipídios .....	132
2.2.3. Proteínas .....	132
2.2.4. Carboidratos e valor energético (VE) .....	132
<b>2.3. Análise sensorial .....</b>	<b>133</b>
2.3.1. Casuística.....	134
2.3.2. Escala hedônica e intensão de compra.....	134
<b>2.4. Análise estatística.....</b>	<b>135</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>136</b>
<b>3.1. Efeitos da redução de gordura e adição de succinil quitosana na composição centesimal dos muffins.....</b>	<b>136</b>
<b>3.2. Parâmetros sensoriais em aceitação global e intenção de compra dos muffins com adição de succinil quitosana .....</b>	<b>140</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>146</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>148</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>152</b>



## INTRODUÇÃO

As tendências da alimentação no Brasil e no mundo, como a busca por produtos mais saudáveis, práticos, confiáveis e sustentáveis vem crescendo cada vez mais, e espera-se que este fenômeno continue por muitos anos. O acesso facilitado de informações pelos consumidores e o aumento da longevidade junto à preocupação da saúde e bem-estar, por exemplo, são fatores importantes que vem afetando a escolha por alimentos, que de certa forma, trarão algum benefício a favor do consumidor, seja pelo simples prazer de comê-lo ou seja pela saúde (VALVASSORI, 2018).

Baseando-se nestas tendências, as indústrias de panificação e a academia por meio de pesquisas científicas, tem buscado formular produtos mais saudáveis, atendendo a essas demandas. Deste modo, estas entidades buscam atender o mercado consumidor oferecendo produtos menos gordurosos (*low fat*), com pouco ou ausência de açúcar (*low sugar*), com menor teor de farinha branca (*gluten free*), além da adição de fibras e proteínas (DOMÉNECH-ASENSI et al., 2016; SOUZA et al., 2018).

Os estudos acerca de alternativas para a substituição destes ingredientes vêm demonstrando novas possibilidades. No caso dos bolos, cujo consumo é mundial, a literatura vêm elucidando que os substitutos de gordura, de açúcar e de farinha, são potenciais ingredientes capazes de manter suas propriedades de qualidade como textura, cor, sabor, além do aporte nutricional, sendo um dos fatores decisivos na escolha do produto (DHEN et al., 2016; RODRIGUEZ et al., 2017; SOUZA et al., 2018; STRUCK et al., 2016).

A gordura, por exemplo, é uma matéria prima de extrema importância na formulação de bolos devido às suas propriedades físico-químicas que participam diretamente na estruturação destes produtos. Contudo, seu uso excessivo nos alimentos implica no aumento de seu consumo, que, por conseguinte, correlacionam-se com o crescimento de doenças como a obesidade, a hipertensão, o diabetes e as doenças cardíacas.

Dentro de uma gama variável de substitutos de gordura (fibras dietéticas, proteínas, etc), os hidrocolóides se destacam devido sua capacidade de espessar e / ou gelificar soluções, aquosas, estabilizar espumas, controlar as propriedades de textura (DICKINSON, 2010), além de serem provenientes em sua grande maioria de fontes naturais (animais, plantas, sementes, algas). Goma xantana, carboximetilcelulose, pectina, goma guar e gelatina são alguns dos exemplos dessa classe de substitutos de gordura que desempenham funções como agente espessante, emulsificante e extensor da vida de prateleira (ALMEIDA, 2016; KUMARI et al., 2011; RIOS et al., 2014; RODRIGUEZ et al., 2017).

A quitosana, um biopolímero natural, é um material potencialmente estudado, atingindo diversas áreas de pesquisa, englobando as áreas biomédicas, farmacêuticas, de cosméticos, no setor alimentício, entre outros (KADAM; PRABHASANKAR, 2010). Contudo, sua aplicação como um substituto de gordura em formulações alimentícias não tem sido pouco explorada.

Sabe-se que a quitosana e seus derivados provem da síntese de desacetilação da quitina, um material insolúvel, encontrado principalmente no exoesqueleto de artrópodes marinhos, como os crustáceos (krill, camarão, siri, etc) que participam significativamente da cadeia produtiva da indústria pesqueira. Indústria essa que gera (mundialmente) toneladas de resíduos por ano, causando danos ambientais devido à má gestão destes subprodutos (DASH et al., 2011).

No entanto, para viabilizar o uso da quitosana, modificações químicas são necessárias em sua estrutura molecular afim de aumentar sua solubilidade com a inserção de grupos hidrofílicos e ampliar suas possíveis aplicações. A succinil quitosana, por exemplo, tem sido muito aplicada na área farmacêutica e biomédica, como *drug delivery* e engenharia de tecidos, respectivamente. Por outro lado, sua aplicação como ingrediente em sistemas alimentícios ainda é pouco explorada

Visando esta demanda, o presente trabalho buscou preparar a succinil quitosana a partir da quitina do krill Antártico e utiliza-la como um substituto de gordura em bolos, avaliando suas propriedades na qualidade desses produtos.

### **Objetivo geral**

Este trabalho teve como objetivo elucidar as potencialidades da succinil quitosana e aplicá-la como substituto da fração lipídica em massas de bolos.

### **Objetivos específicos**

- Obter e caracterizar a succinil quitosana (SQ) a partir da quitina do krill Antártico (*Euphausia superba*);
- Estudar as características dos materiais viabilizando o uso em formulações de bolos;
- Formular massas de bolos com SQ reduzindo o teor lipídico em diferentes níveis;
- Observar a influência da SQ na massa batida quanto à viscosidade e densidade;
- Observar os efeitos da SQ nas propriedades de qualidade (textura, porosidade, vida de prateleira, atividade água), físico-químicas e sensoriais.

Desta forma, a tese foi escrita e dividida em 4 capítulos, conforme descrição prévia abaixo:

### **Capítulo 1**

Neste primeiro capítulo discutiu-se sobre as características dos bolos destacando seus principais ingredientes dando ênfase à gordura, no que se refere a suas funções tecnológicas e seus efeitos no consumo excessivo.

Desse modo, o capítulo focou também nos hidrocolóides como substitutos de gordura, apresentando a quitosana como tal. Introduziu-se o tema sobre o produto de partida, no caso a quitina do krill Antártico, expondo suas aplicações e implicações frente suas características, justificando assim o uso da succinil quitosana (derivado da quitina) cuja funcionalidade aponta para um provável substituto de gordura em potencial.

## **Capítulo 2**

No segundo capítulo buscou-se elucidar as características da quitina, da quitosana e da succinil quitosana (SQ), validando a reação da desacetilação da quitosana e a reação de succinilação (com anidrido succínico e etanol em meio ácido) atribuindo-se as bandas de absorção correspondes aos grupos funcionais característicos à cada material pela análise de infravermelho (FTIR); o grau de desacetilação da quitina também é obtido por meio da análise de FTIR. Caracterizou-se também os biopolímeros quanto à solubilidade da SQ e ao seu grau de succinilação. Os perfis cristalinos foram obtidos por difração de raio X, além dos termogramas obtidos pelas análises de termogravimetria (TG/DTG/DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), determinando-se assim a estabilidade térmica de cada componente.

## **Capítulo 3**

No terceiro capítulo os efeitos da adição da succinil quitosana e a diminuição gradual dos níveis de gordura nas propriedades de qualidade dos bolos foram estudados. Neste contexto, cinco formulações básicas de bolos foram desenhadas, sendo uma a amostra controle (nível máximo de gordura e ausência de SQ). As outras apresentam conteúdo constante de 2,0 g de SQ por 100 g de farinha de trigo e níveis de redução de 25, 50, 75 e 100 % de gordura. Para a avaliação dos efeitos, a princípio mediu-se as propriedades emulsificantes da SQ. Após a elaboração de cada batelada, determinou-se a densidade e as propriedades de pasta das massas batidas. E após o

cozimento, seguiu-se com as análises de textura pelo método de TPA (firmeza, elasticidade, coesividade, mastigabilidade e resiliência), cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), umidade, atividade de água e características quanto ao volume e à porosidade dos miolos dos bolos por análise de imagem digitalizada. Recorrendo a análise de *shelf-life* e de umidade (do 1º ao 4º dia) pode-se determinar a taxa de endurecimento e de secagem dos bolos.

## Capítulo 4

Neste último capítulo discutiu-se sobre os efeitos da redução gradativa de gordura e da presença de SQ, como delineado no Capítulo 3, no que se refere a composição centesimal dos *muffins*, determinando-se a umidade, o teor de cinzas (ou resíduo mineral), lipídeos, proteínas, carboidratos e valor energético. E por fim, realizou-se a análise sensorial de quatro formulações, excluindo apenas a formulação com redução total da gordura e presença de succinil quitosana, justificado pelos resultados encontrados no capítulo anterior. As respostas sensoriais se deram pelo teste afetivo, ou seja, pela aceitabilidade dos consumidores mensurada por escala hedônica de 9 pontos, e pelo teste de intenção de compras, em que os provadores avaliariam se comprariam ou não comprariam os *muffins* em uma escala de 1 a 5. Também buscou-se identificar dos provadores se eles identificaram diferenças entre as amostras servidas.



## CAPÍTULO 1

### Abordagem dos temas: massas de bolos, substitutos de gordura e succinil quitosana

#### RESUMO

Os produtos panificados como pães e bolos são consumidos em todo mundo, e ao longo do tempo o setor tem investido em pesquisas afim de otimizar e aperfeiçoar cada vez mais os ingredientes e as receitas desses produtos. As formulações de bolos passam constantemente por inovações de ingredientes e receitas, ora pelas altas quantidades de gordura e açúcar que contem em suas formulações, ora pela qualidade e natureza da farinha. A tendência por produtos ricos em fibras e baixo conteúdo de gordura tem estimulado as indústrias e as pesquisas a atenderem essa demanda. A literatura tem mostrado novos ingredientes substitutos de gordura mesmo sendo um desafio eliminá-la. A gordura desempenha um papel essencial na estruturação da massa e nas características de qualidade final e sensorial, promovendo volume, miolo de grãos finos e palatabilidade no bolo cozido. Diante disso, os hidrocolóides se destacam na realização dessa função. A aplicação de hidrocolóides aniônicos como a goma xantana, a goma guar, pectina e celulose, entre outros fazem parte do grupo de hidrocolóides que possuem características de modo que se comportem como a gordura na estrutura das massas de bolos. Atualmente, a motivação para reduzir o consumo excessivo de gordura vem dos seus efeitos no organismo, devido ao aumento dos riscos de obesidade e de doenças cardiovasculares, somados ao sedentarismo e, por vezes, ao tabagismo. No entanto, não tem sido relatado estudos com o uso de quitosana e seus derivados realizando esta função como uma alternativa as gorduras. De fato, o que tem sido reportado são formulações de pães contendo quitosana e derivados (lactato, ascorbato, succinato de quitosana) e seus efeitos quanto ao comportamento físico-químico e de qualidade. A quitosana, um biopolímero natural, que tem como material de partida a quitina, proveniente principalmente da carcaça de crustáceos, tem sido considerada um hidrocolóide catiônico, capaz de formar géis, *beads*, entre outras formas, sendo largamente aplicada em *drug delivery*, encapsulamento de fármacos e aromas e agente estruturante. Porém, sua aplicação em massas de bolos é inviável devido sua insolubilidade em meio aquoso. Desse modo, a modificação química por succinilação aumenta a faixa de solubilidade do material devido a inserção dos grupos succinatos na cadeia polimérica da quitosana, estendendo assim sua aplicação. Desta forma, a abordagem em torno do conhecimento sobre a função da gordura nas massas de bolos, bem como de seus substitutos foi apresentada. E além disso foi apresentado um potencial substituto de gordura, sendo a succinil quitosana devido suas características físicas e químicas. Portanto, pelos estudos apresentados verifica-se que a succinil quitosana possui propriedades desejáveis para exercer o papel da gordura em bolos.

**Palavras-chave:** Bolos, óleos e gordura, hidrocolóides, succinil quitosana



## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 Panificação**

A pesquisa e o desenvolvimento, inserido na indústria de panificação, é uma ciência aplicada na qual engloba o desenvolvimento de produtos e processos envolvendo testes de ingredientes, segurança alimentar, regulamento sobre rotulagem, tecnologia de embalagens, bem como o aperfeiçoamento as mudanças de formulação e processamento (FREEMAN, 2015). Com constantes lançamentos de produtos pelas indústrias, os formuladores aproveitam a grande variedade de matérias primas existentes no mercado para desenvolver novas formulações a fim de minimizar custos, aperfeiçoar processos e incorporar benefícios nutricionais aos consumidores.

Para tanto, a compreensão dos aspectos básicos da ciência dos alimentos, cujo conhecimento engloba estruturas como carboidratos, proteínas e lipídeos são essenciais para formação e qualificação de profissionais do setor de panificação durante o desenvolvimento e/ou melhoramento de produtos. A capacidade de identificar esses compostos e reconhecer suas diferenças contribui na resolução de problemas de formulação e produção (PYLER; GORTON, 2008).

O consumo de produtos relacionados ao setor de panificação tem demonstrado um consumo de pães e bolos industrializados, per capita (kg/ano), de 2,24 tendo poucas variações nos últimos anos (2,36 em 2017 e 2,26 em 2015) (ABIMAPI, 2018). O desenvolvimento tecnológico possibilitou mudanças nas indústrias transformando a produção de pequena para grande escala. Nos últimos cinco anos, o setor de panificação no Brasil tem realizado esforços para acompanhar as estatísticas de consumo observadas nacionalmente que exigem produtos de maior conveniência e extensão na vida-de-prateleira (ABIMAPI, 2018).

Os últimos dados da Associação Brasileira das Indústrias de Biscoitos, Massas Alimentícias & Pães e Bolos Industrializados (2018) registra em número de vendas 31,880 mil tons no ano de 2017 e 0,840 em bilhões de reais.

Neste sentido, a demanda por produtos com conteúdo calórico reduzido ou, por exemplo, ausência de glúten (MAYER et al., 2016) na formulação, não decorre apenas do interesse do consumidor por produtos relacionados a dietas de controle de peso, mas por interesse também de órgãos governamentais preocupados com a saúde da população. Esta preocupação se deve, principalmente, à respeito das implicações nutricionais do consumo excessivo de gorduras e pelos benefícios do aumento do consumo de fibras dietéticas (GÓMEZ H. et al., 2016; HOOPER et al., 2015).

Esse cenário revela a importância da produção de produtos de panificação, destacando-se os bolos industrializados, lembrando que a melhoria na formulação desses produtos é a chave para o aumento do consumo (MARTÍNEZ-CERVERA et al., 2013). Para este presente estudo foi escolhido trabalhar com os bolos *muffins* por serem produtos pequenos, de fácil armazenamento e por serem porções individuais.

## 1.2. *Muffins*

Historicamente, os *muffins* (Figura 1) começaram a ser comercializados por volta do século 19 nas ruas de Londres. Caracterizavam-se como pequenos bolos arredondados e sem açúcar, enquanto que nos Estados Unidos eram oferecidos como um tipo de pão, também em formato arredondado untados em latas e assados em altas temperaturas (PYLER; GORTON, 2008).

Figura 1. Típico bolo muffin



Atualmente, centenas de diferentes tipos de *muffins* são comercializados ao redor do mundo, principalmente no Canadá e nos Estados Unidos, utilizando-se das mais diversas matérias primas, a fim de enriquecê-los nutricionalmente utilizando-se de receitas variadas com acréscimos de frutas, amêndoas, gotas de chocolate, entre outros ingredientes (GÓRNAŚ et al., 2016; PADHI et al., 2015).

As formulações dos *muffins* podem variar conforme a necessidade do consumidor. A formulação básica, baseada no método de porcentagem da farinha de trigo (ou misturas de farinha de arroz, ou milho) é representada como 100 % e os demais ingredientes como uma porcentagem da farinha. O açúcar e a água representam 60 % da farinha, a gordura 40 %, os ovos 30 %, o leite em pó 7,5 %, o fermento químico e o sal representam, respectivamente 5,0 % e 1,5 % (PYLER; GORTON, 2009). No mercado brasileiro alguns exemplos podem ser vistos na Figura 2.

Figura 2. Exemplos de *muffins* no mercado brasileiro



Por conta do uso da farinha de trigo, do leite do açúcar e da gordura, os formuladores e cientistas buscam melhorar as formulações desses produtos, podendo assim atingir um número maior de consumidores que excluem de suas dietas estes tipos de macro ingredientes.

Por exemplo, as pessoas portadoras da doença celíaca – enteropatia autoimune induzida pela ingestão do glúten (FREEMAN, 2015) - tem sido alvos de inúmeras pesquisas com o intuito de retirar, ou de pelo menos reduzir esta proteína das formulações de pães por farinhas especiais como a farinha de arroz e por hidrocolóides como a goma xantana (DHEN et al., 2016; MOHAMMADI et al., 2014), em bolos como a farinha de quinoa e as fibras (inulinas e  $\beta$ -glucanas) (SALAS, 2011; GULARTE et al., 2012) e até de bebidas fermentadas (MAYER et al., 2016; TAYLOR et al., 2011)

Numa tentativa de reduzir o valor calórico e produzir produtos mais saudáveis, pesquisadores têm desenvolvido numerosos substitutos de gordura e açúcar. Esses novos ingredientes buscam contribuir com menos calorias em formulações de produtos de confeitaria, aproximando os efeitos que mimetizam a gordura e o açúcar, por exemplo (MANCEBO; RODRIGUEZ; GÓMEZ, 2016; WILDERJANS et al., 2008).

No entanto é necessário um entendimento básico sobre a estrutura dos *muffins* para que se possa entender a função da gordura em seu sistema, no que diz respeito às causas e efeitos.

### 1.3 Estrutura da massa de bolo

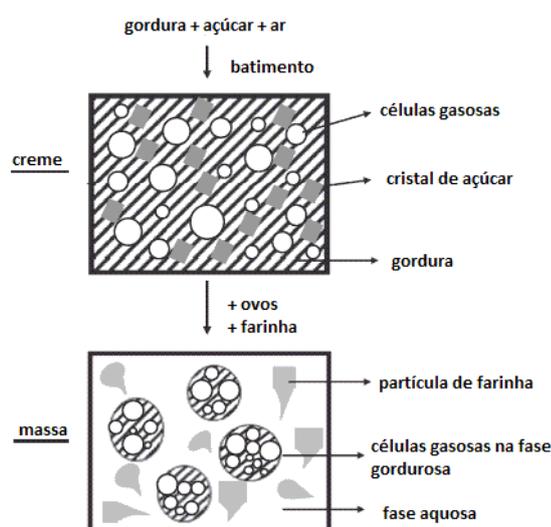
Basicamente trata-se de uma massa, cujo ingrediente principal é a farinha de trigo por fornecer a matriz principal em torno da qual os demais ingredientes (gordura, açúcar, ovos e leite) são misturados para formar a massa caracterizando um sistema complexo de emulsão (óleo em água – O/W) e espuma, o qual confere uma estrutura porosa com grande volume e uma textura esponjosa após o processo de cozimento (MARTÍNEZ-CERVERA et al., 2012).

No início do processo de batimento da massa, os ovos e o açúcar são comumente misturados juntos. O açúcar entra na solução aquosa presente no ovo e numerosas bolhas de ar são incorporadas no sistema devido à atividade surfactante da proteína do ovo. Essas proteínas formam uma camada protetora

ao redor dessas bolhas, evitando que as mesmas se coalesçam ou escapem da massa. Após a incorporação de ar, a farinha é adicionada aos poucos para que se evite a desestabilização do sistema aerado obtido no estágio anterior (CAUVAIN, YOUNG, 2009). A Figura 3 esquematiza a estrutura formada da massa de bolo durante os estágios de batimento.

A imagem ilustra claramente que neste tipo de batimento (dois estágios), a formação do creme na massa se dá por conta da incorporação e retenção das células gasosas devido às propriedades dos ingredientes que são adicionados: açúcar e gordura.

Figura 3. Representação dos estágios de batimento da massa



Fonte: Adaptada de WILDERJAN et al (2013)

O açúcar, além de proporcionar sabor e cor ao produto final, ele aumenta a viscosidade da massa promovendo estabilidade e facilitando assim, a retenção das bolhas gasosas. Além do mais, este ingrediente afeta diretamente a estrutura física desses produtos pelo fato de regular a gelatinização do amido durante o cozimento, e permitir a expansão das bolhas de ar o qual promoverá uma estrutura porosa e macia (WILDERJANS et al., 2013; INDRANI; RAO, 2008). Estudos sobre os efeitos de diferentes tipos de açúcar, sobretudo na gelatinização do amido e na desnaturação proteica do

ovo, mostram por meio de análises reológicas evidências na desaceleração deste evento (SCHIRMER et al., 2012). Entretanto, estes efeitos não serão objetos de estudos neste trabalho até o momento.

A gordura tem um papel fundamental na estruturação dos bolos, os quais serão vistos no próximo item 1.4.

#### 1.4. A gordura e seu papel na estruturação de bolos

O estudo sobre o papel da gordura em massas vem se expandindo há muitos anos. Desenvolver uma gordura plástica para uma determinada aplicação em formulações alimentícias depende de uma série de fatores. Esses fatores diferem de cliente para cliente, da aplicação do produto, do tipo de equipamento que a empresa utiliza as limitações do processo, e entre outros requisitos. (O'BRIEN, 2009; GHOTRA; DYAL; NARINE, 2002).

Os atributos importantes em formulações alimentícias variam consideravelmente. Em várias aplicações, as gorduras são multifuncionais, ou seja, elas promovem certas características como, por exemplo, sendo um meio de transferência de calor e promovendo lubrificação e sabor à produtos fritos, no processo de aeração, lubrificação, e estruturação em bolos, recheios, cremes para coberturas e chantilly, assim como em pastas atribuindo vida de prateleira prolongada e maciez em pães. Portanto, a gordura é um grande contribuinte para a característica estrutural da grande maioria de produtos industrializados, contribuindo significativamente na qualidade do produto final (O'BRIEN, 2009).

A gordura possui propriedades importantes dos quais participam diretamente no processo de batimento e cozimento da massa e durante o armazenamento do produto final. Além de que, as gorduras são determinantes para o sabor dos bolos, principalmente porque muitos desses produtos possuem em suas formulações componentes aromáticos solúveis em lipídeos (WILDERJANS et al., 2013).

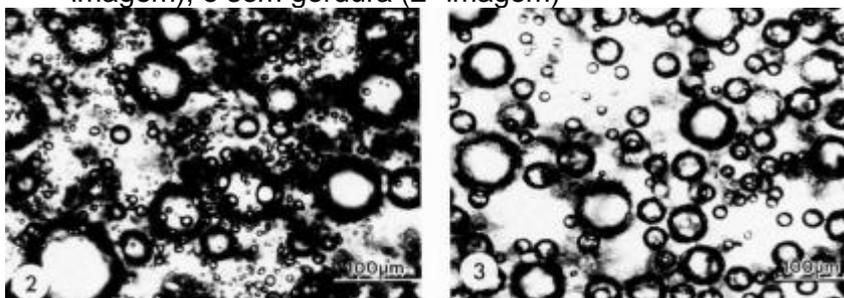
Das diversas propriedades que as gorduras possuem, neste contexto destacam-se duas principais características: o conteúdo de gordura sólida e a estrutura cristalina.

Os triacilgliceróis exibem um fenômeno conhecido como polimorfismo. O polimorfismo é a capacidade do material se apresentar em diferentes formas cristalinas com diferentes empacotamentos moleculares. Os três tipos mais comuns são: hexagonal ( $\alpha$ ), ortorrômbico ( $\beta'$ ) e triclínico ( $\beta$ ) (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008).

Sabe-se que o tipo de cristal afeta significativamente as propriedades de uma emulsão quanto sua estabilidade, reologia e aparência. Um estudo foi conduzido com o objetivo de investigar as propriedades das gorduras neste tipo de sistema. Brooker (1993) observou através de várias técnicas de microscopia eletrônica que pequenas estruturas cristalinas de gordura interagem com as proteínas provenientes do ovo e se adsorvem na interface ar-água das bolhas de ar.

Essa interação garante que a célula gasosa não se rompa durante o processo de batimento e coalesça com outras gotículas. A pesquisa também demonstra pelas imagens (Figura 4) que as massas formuladas com a gordura e o emulsificante incorporaram maior quantidade de bolhas de ar que as formulações sem este ingrediente (BROOKER et al., 1993).

Figura 4. Micrografias de massas de bolos com gordura (1ª imagem), e sem gordura (2ª imagem)



Fonte: Booker (1993).

Outro aspecto interessante do uso dos óleos e das gorduras é que neste sistema, esses ingredientes reduzem de forma consideravelmente as propriedades dos ovos, a fim de formar e estabilizar a estrutura espumosa que a massa de bolo apresenta quando se usa somente esse ingrediente como agente emulsionante e estabilizante. Por outro lado, com a adição da gordura, o mecanismo de aeração envolve também a adição de alguns outros elementos adequados para a estabilização do sistema, como, por exemplo, o monoestearato de glicerina (GMS) – um agente emulsificante largamente utilizado na indústria alimentícia empregado tanto em emulsões O/W como em emulsões W/O (CAUVAIN; YOUNG, 2009; SAHI, 2008).

Se por um lado as pesquisas vêm acelerando os passos para obter gorduras mais saudáveis e que atendam às necessidades tecnológicas industriais, por outro lado as pesquisas na área da saúde avançam também para comprovar o quanto o consumo excessivo deste ingrediente afeta a saúde e a qualidade de vida da população como um todo.

Os óleos e gorduras representam um dos constituintes principais e importantes da dieta humana (HASHIMOTO et al., 2013a; MARANGONI et al., 2011). Estes constituintes são relativamente grandes fornecedores de energia (9 kcal/g) quando comparados aos carboidratos e as proteínas (4 kcal/g) (O'BRIEN, 2009). Os óleos e as gorduras atuam como transportadores das vitaminas lipossolúveis A, D, E e K (MARANGONI et al., 2011; MÉJEAN et al., 2013), fornecem ácidos graxos essenciais, assim como desempenham outras funções importantes ao metabolismo (HASHIMOTO et al., 2013)

Diversos estudos clínicos e epidemiológicos apontam que o consumo excessivo de dietas ricas em óleos e gorduras contribuem com o aumento de doenças crônicas como as doenças cardiovasculares, o Diabetes Tipo 2 e, principalmente a obesidade (WIJESUNDERA; RICHARDS; CECCATO, 2007), ainda mais quando estão associadas ao sedentarismo, falta de exercícios regulares e baixa qualidade de vida (estresse, tabagismo, alcoolismo, etc).

A Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO) revela que a obesidade é um dos maiores problemas de

saúde pública no mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). A projeção é que, em 2025, cerca de 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso; e mais de 700 milhões, obesos. O número de crianças com sobrepeso e obesidade no mundo poderia chegar a 75 milhões, caso nada seja feito. No Brasil, a obesidade vem crescendo cada vez mais. Alguns levantamentos apontam que mais de 50% da população está acima do peso, ou seja, na faixa de sobrepeso e obesidade (ABESO, 2018).

A indústria alimentícia tem respondido às diretivas das dietas de promoção da saúde desenvolvendo novos produtos alimentícios com teores reduzidos de gordura e altos teores de fibras e proteínas.

Neste sentido, o uso de substitutos de gorduras em formulações alimentícias tem sido descritos por muitos pesquisadores e podem ser resumidos como: óleos vegetais (SOWMYA et al., 2009; ESTELLER; AMARAL, LANNES, 2004), carboidratos (CORNEJO; ROSELL, 2015), proteínas (MATOS; SANZ; ROSELL, 2014), fibras (LEE; PARK; LEE, 2011) e hidrocolóides (ZAMBRANO et al., 2004; GÓMEZ et al., 2007), sendo este último objeto de estudo neste presente trabalho.

### 1.5 Hidrocolóides e aplicação na panificação

Os hidrocolóides alimentícios são biopolímeros hidrofílicos com alto peso molecular, utilizados pelas indústrias alimentícias como um ingrediente que possuem propriedades funcionais capazes de controlar a microestrutura, a textura, o sabor e a vida de prateleira (DICKINSON, 2010).

O estudo dos hidrocolóides está diretamente relacionado com o conhecimento das interações em sistemas alimentícios podendo ser de ordem química (ligações de hidrogênio, ligações de dissulfetos, ligações cruzadas), física (adsorção, absorção, evaporação, etc) ou físico-química (formação de emulsões, espumas, géis). As condições físicas como pH, força iônica, temperatura, umidade, ou seja, condições intrínsecas e extrínsecas afetam a

intensidade dessas interações, sendo muito importante o controle destes parâmetros (DICKINSON, 2010).

Neste sentido, a escolha de um hidrocolóide vai depender das características funcionais desejadas para determinados tipos de alimentos. Alguns exemplos de hidrocolóides estudados e utilizados pelos formuladores são as pectinas que atribuem propriedades gelificantes, a goma xantana e a goma guar, por exemplo, que conferem características espessantes, o amido que atua como espessante e agente de gelificação, e a quitosana que proporciona características espessante e estabilizante (KUMARI et al., 2011; MOHAMMADI et al., 2014).

Pensando nas aplicações atribuídas aos hidrocolóides, fez-se um breve levantamento sobre estes materiais e suas funcionalidades em diferentes formulações de produtos panificados.

O amido de mandioca recentemente tem sido aplicado em formulações de *muffins* como um provável substituto de gordura nos níveis de 8, 12 e 16 % de substituição (RODRIGUEZ et al., 2017). Neste estudo, pesquisadores não observaram diferenças em características consideradas importantes como volume específico, cor e umidade do miolo nos *muffins*. No entanto, os resultados para as propriedades de pasta foram afetados, diminuindo a estabilidade da massa como o tempo de desenvolvimento.

Goma guar e carboximetil celulose têm sido utilizados para substituir o glúten em formulações de pães tipo *flatbread* (exemplo de flatbread é o pão sírio) a fim de mimetizar os efeitos do glúten nas propriedades destes pães (MOHAMMADI et al., 2014). Sabe-se que o glúten interfere nas propriedades viscoelásticas das massas, atribuindo elasticidade e extensibilidade. Neste caso, os hidrocolóides utilizados diminuem o atributo firmeza e aumentam a elasticidade, conferindo qualidades positivas ao produto.

Também se utiliza a goma guar e a carboximetilcelulose para substituir a gordura em bolos. KUMARI et al. (2011) relataram melhoramento das propriedades como aumento da viscosidade e da umidade e boa aceitabilidade,

de acordo com a análise sensorial, na qual os bolos com hidrocolóides receberam maiores notas, em relação ao controle.

Outros hidrocolóides como o alginato de sódio, carragena, pectina, hidroxipropilmetilcelulose e goma locusta também já foram alvos de estudos em massas de bolos aumentando o volume dos produtos finais e melhorando as qualidades sensoriais (GÓMEZ et al., 2007).

Também estão entre os substitutos de gordura muito utilizados, estão os ingredientes baseados em carboidratos como as fibras de aveia (LEE; KIM; INGLET, 2005; MARTÍNEZ-CERVERA et al., 2012)

Em um estudo conduzido por Kerch et al. (2008) e Kerch, Zicans e Meri (2010) foi avaliado o efeito da quitosana na estrutura e propriedades de pães, bem como sua interação com outros ingredientes. Os autores destacaram os efeitos da quitosana em relação à migração da água do centro do miolo até a crosta, que por sua vez, aumentou a taxa de envelhecimento (N/dia), ou seja, o quanto o valor de firmeza aumentou conforme o tempo. A cor da crosta demonstrou coloração mais escura, em relação ao controle, devido à intensa reação de Maillard durante o cozimento dos pães.

Diante dos dados expostos, a qualidade de produtos panificados como os pães e os bolos e as propriedades nutricionais como um todo sustentam a ideia de se utilizar a quitosana como um grande potencial substituto de gordura nas formulações de bolos, abrindo espaço para novas formulações de diferentes produtos do setor.

A quitosana, um hidrocolóide de origem animal (embora esteja presente também em fungos e algas marinhas), e pouco explorada em relação à esta aplicação, será o foco deste trabalho atribuindo a função de um substituto de gordura em formulações para *muffins*.

#### 1.6 Krill Antártico (*Euphausia superba*) - Fonte de quitina -

Um dos grupos mais abundantes em termos de área e biomassa e ecologicamente importantes nos ecossistemas costeiros e pelágicos é o krill

(ordem Euphausiacea). No Oceano Antártico, o krill antártico *Euphausia superba*, conhecido simplesmente como "krill" desempenha um papel fundamental no ecossistema oceânico servindo como presa principal para uma variedade de peixes, aves e mamíferos marinhos (SHELTON et al., 2013).

O krill antártico também tem sido alvo de operações comerciais de pesca dirigida. A captura de krill atingiu o pico no início de 1980, com capturas anuais atingindo aproximadamente 500.000 toneladas, antes de cair o interesse comercial do krill e a ex-frota de pesca Soviética reduziu capturas anuais para menos de ~100,000 toneladas em grande parte na década de 1990. Atualmente, as capturas vêm novamente aumentando devido a uma combinação de novos produtos, de novos países que entraram para a pesca e de novas tecnologias de pesca. As capturas anuais de krill estão na faixa de 200.000 toneladas e, como parte do regime de gestão das pescas em curso, a pesca em na sub-área 48.1 da Península Antártica atingiu a quota para essa região três vezes desde 2010 (WATKINS et al., 2016).

Esta espécie, por causa de sua ampla distribuição, abundância e sua posição central na cadeia alimentar, tem atraído muita atenção. São crustáceos abundantes que crescem até cerca de 6 cm de comprimento e são encontrados somente no Oceano Antártico. Eles ocupam muitos habitats diferentes: sob o gelo do mar, profundidades abissais e as águas superficiais do oceano aberto, mas as maiores concentrações ocorrem perto das plataformas continentais que cercam as ilhas do Mar de Scotia e no oeste da Península Antártica (GIGLIOTTI; JACZYNSKI; TOU, 2008; WANG et al., 2011).

O krill (Figura 5), não é um alimento tradicional na dieta humana. A aceitação pública do krill para consumo humano dependerá, em parte, do seu valor nutritivo. O krill é uma rica fonte de proteína de alta qualidade, com a vantagem, de diferentes fontes de proteína animal, de ser pobre em gordura e fonte de ácidos graxos ômega-3, atualmente comercializado em cápsulas. Os níveis de antioxidantes, como as astaxantinas presentes no krill são maiores do que em peixes, sugerindo benefícios contra danos oxidativos. Finalmente, os resíduos gerados pela transformação de krill em produtos comestíveis podem ser desenvolvidos em produtos de valor acrescentado (OKUDA; KIYOTA, 2012)

Figura 5. Krill Antártico (*Euphausia superba*)



Portanto, o uso de proteínas e lipídeos provenientes do krill antártico tem sido muito estudado. As cascas do krill antártico, que eram materiais considerados não comestíveis, sabe-se hoje, que é um material considerado fonte de quitina (WANG et al., 2013).

Um estudo revelou um grande potencial do uso da quitina proveniente do krill, em relação à sua aplicabilidade em efeitos hemostáticos em animais. Os pesquisadores observaram os efeitos em componentes sanguíneos, e revelaram que a quitosana do krill diminuiu em 38 % o tempo de coagulação do sangue, mostrando que este polímero tem grande potencial na área biomédica (WU et al., 2015).

### 1.7 Quitina, quitosana e succinil quitosana

Os derivados de crustáceos, como as carapaças constituídas em grande parte de quitina são utilizados em áreas como biomedicina, farmacêutica, engenharia de tecidos e alimentícia. Os materiais são usados em aplicações que vão desde antibióticos e suturas cirúrgicas para suplementos dietéticos, e rações animais, especialmente no controle do colesterol devido à sua propriedade de absorção da gordura (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009) A quitina é um abundante biopolímero que, em associação com outras biomacromoléculas (carboidratos e proteínas) é um componente estrutural essencial na formação do exoesqueleto em artrópodes (aranhas, insetos, crustáceos, etc) bem como nas paredes celulares de fungos (HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016)

Em décadas recentes, a quitina tem recebido grande atenção de estudos e aplicações por conta de suas propriedades atuando em vários campos de pesquisa incluindo áreas como alimentos, farmacêutica, cosméticos, medicina, assim como na agricultura, no tratamento de água, e entre outros (WANG et al., 2013).

A aplicação potencial da quitina está fortemente associada a seu derivado – a quitosana – da qual é largamente estudada e aplicada desempenhando diversas funções, devido às suas propriedades. Neste sentido, muitas tecnologias têm surgido para possibilitar a utilização da quitosana.

Dentre elas destacam-se os biomateriais como os filmes comestíveis aplicados para a conservação de alimentos (MOURYA; INAMDAR, 2008), fins farmacêuticos como liberação controlada de drogas (RINAUDO, 2006), na área biomédica como regeneração de cartilagens e aplicação artificial de ossos e peles (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009).

Este interesse tem como principal causa o grande acúmulo de resíduos gerados pela indústria pesqueira, que necessita transformar a matéria prima em um produto aceitável comercialmente (BESSA-JUNIOR; GONÇALVES, 2013).

### 1.7.1 Panorama da quitosana

O instituto *Transparency Market Research* (TMR) publicou um relatório intitulado, "*Chitosan Market- Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast, 2014 – 2020*" de mercado sobre o panorama global da quitosana, estimando expandi-la em uma taxa composta de crescimento anual de 17,70% durante o período de 2014 a 2020 e chegar a um valor de mercado de US\$ 4,20 bilhões até o final do período previsto (TMR, 2018).

América do Norte, Ásia-Pacífico e Europa são os principais mercados regionais de quitosana. Ásia-Pacífico lidera o mercado global de quitosana e atualmente é seguido da Europa e América do Norte, de acordo com o

relatório. Em 2013, a região Ásia-Pacífico detinha mais de 55% do mercado global. China e Japão são os principais produtores de quitosana nesta região. Por outro lado, o mercado de quitosana no resto do mundo é propenso a relatar a maior taxa de crescimento, em termos de volume produzido, ao longo do período previsto (TMR, 2018).

O rápido aumento nas aplicações de tratamento de água em todo o mundo, juntamente com o aumento do uso de cosméticos, com ingredientes orgânicos, está impulsionando significativamente o mercado de quitosana mundial. O relatório analisa o mercado mundial de quitosana com base na sua aplicação.

Estações de tratamento de água, unidades industriais, setor de alimentos e bebidas, biomedicina e produtos farmacêuticos, cosméticos, agroquímicos e outras indústrias, tais como células de combustível e produtos fotográficos são as principais áreas de aplicação de quitosana. O segmento de tratamento de água é um dos maiores consumidores de quitosana mundialmente. No entanto, o segmento agroquímico está propenso a relatar o crescimento mais rápido entre todos os segmentos de aplicação prevista para o período. Atualmente, detém cerca de 5% da demanda gerada no mundo todo (TMR, 2018).

Em termos de legislação brasileira, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Instrução Normativa (IN) IN N° 28, de 26 de julho de 2018, inseriu a quitosana nas “Lista de constituintes, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar de suplementos alimentares. Desta forma, no ANEXO V desta IN permite se a seguinte alegação:

*“A quitosana auxilia na manutenção dos níveis de colesterol sanguíneo”.*

Esta alegação segundo a IN, é restrita aos suplementos alimentares que forneçam no mínimo 3,0 g de quitosana na recomendação diária de consumo, sendo requisito específico de composição e rotulagem (ANVISA, 2018).

### 1.7.2 Características e propriedades da quitina e quitosana

A quitina (Figura 6a) é o segundo polissacarídeo mais abundante após a celulose e tem como principais fontes naturais o exoesqueleto de crustáceos, através de processos químicos e enzimáticos (KLINKESORN, 2013), sendo também encontrados em insetos, moluscos e na parede celular de fungos (WANG; ESKER, 2014).

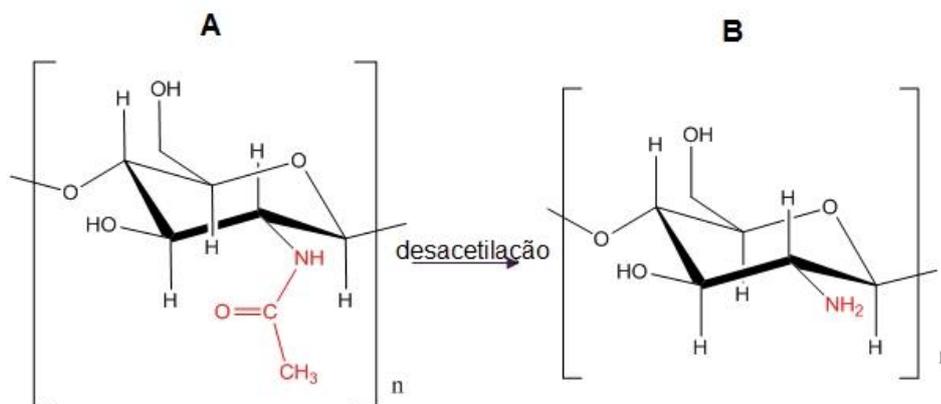
A constituição da quitina é formada pela estrutura 2-acetamida 2-desoxi- $\beta$ -D-glicose (N-acetil-D-glicosamina), sendo similar à celulose. Encontrada nas formas  $\alpha$  onde a estrutura é formada por cadeias antiparalelas,  $\beta$  por cadeias paralelas e  $\gamma$  por cadeias paralelas e antiparalelas, todas encontradas na natureza (HAJJI et al., 2014).

As estruturas  $\alpha$  das cadeias de quitina são fortemente ligadas por um número alto de ligações de hidrogênio entre suas folhas. Esse elevado teor de ligações de hidrogênio é o principal responsável pela insolubilidade e intratabilidade da quitina. Essa forte rede, praticamente inteira dominada pelas ligações C-O-NH, mantém essas cadeias a uma distância de cerca de 0,5 nm (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009). No entanto, essa forte interação entre cadeias é tipicamente característica da forma  $\alpha$ , não sendo encontrado para a forma  $\beta$ . (RINAUDO, 2006).

No processo de obtenção da quitina, pode ocorrer alguma desacetilação, o que faz com que o grau de acetilação seja cerca de 90 %, contribuindo um pouco para a sua solubilidade, sendo, portanto o grau de acetilação crucial nesta característica (KLINKESORN, 2013; WANG et al., 2013).

A quitosana (Figura 6B) é resultado da desacetilação, ou seja, da remoção do grupo acetamida da quitina (em vermelho na Figura 6A) em diferentes graus, e sua natureza química é composta da estrutura 2-amino 2-desoxi- $\beta$ -D-glicose poli (D-glicosamina) e por unidades de N-acetil-D-glicosamina ligadas por  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009).

Figura 6. Estrutura química das moléculas de quitina (A) e da quitosana (B), após o processo de desacetilação



Fonte: Autor

Existe nesses dois aminopolissacarídeos um grande interesse por conta da presença de seu grupo amino (em vermelho na Figura 6B), o qual pode ser facilmente modificado a fim de conferir propriedades distintas aos materiais, como por exemplo, sua solubilidade (YEN; YANG; MAU, 2009).

Além do grupo amino, os grupos hidroxilas também são sítios reacionais fazendo com que a estrutura desses dois polímeros possam sofrer reações químicas como eterificação, esterificação, ligação cruzada e copolimerização, reações com aldeídos, cetonas, alquilação, quelação com metais e acetilação, por exemplo (BASHIR et al., 2015).

Devido à insolubilidade da quitina, muitos dos trabalhos têm se dedicado ao estudo de seu derivado desacetilado. Essa solubilidade decorre por conta da estrutura semicristalina da quitina, com extensa quantidade de ligação de hidrogênio, energia de coesão bem alta, fazendo com que essa seja praticamente insolúvel em uma vasta gama de solventes (RAVI KUMAR, 2000).

Diferentemente da quitina, a quitosana é solúvel em soluções ácidas diluídas abaixo de pH 6. Isso ocorre porque a quitosana pode ser considerada como uma base, sendo que seus grupos amino possuem um pKa de 6,3. Portanto, em valores de pH menores do que este pKa, o grupo amino estará protonado, fazendo com que a molécula adquira uma carga positiva,

umentando a hidrofiliçidade da estrutura e favorecendo a interação com o meio aquoso (EL-HEFIAN, 2010).

O fato da solubilidade estar diretamente relacionada ao grupo amino implica que o grau de desacetilação é fundamental no parâmetro de solubilidade da quitosana (BEIL et al., 2012).

Outro fator diretamente ligado à presença do grupo amino é a capacidade de formar sais de nitrogênio quaternário. Nesse sentido, ácidos orgânicos como o acético e fórmico podem dissolver a quitosana. O mais usado destes ácidos é, sem dúvida, o ácido acético. Outros fatores críticos para a solubilidade da quitosana incluem temperatura, tempo de desacetilação, concentração de base, tratamentos prévios aplicados à purificação da quitina e tamanhos de partículas (BASHIR et al., 2015; DASH et al., 2011).

Dentre as ferramentas usadas para se aumentar a solubilidade da quitina, pode-se realizar a desacetilação, fazendo uso da já mencionada versatilidade química da mesma.

O processo de desacetilação ocorre suspendendo o polissacarídeo de partida em meio aquoso em presença de hidróxido de sódio concentrado que irá então promover a hidrólise. A forte associação entre as numerosas ligações de hidrogênio da estrutura da quitina faz com que os sítios reativos mais internos sejam impedidos estéricamente, já que as cadeias se separam limitadamente umas das outras (BASHIR et al., 2015; DE ALVARENGA; PEREIRA DE OLIVEIRA; ROBERTO BELLATO, 2010).

Nas regiões amorfas, nas quais a acessibilidade aos sítios é maior, as reações ocorrem mais facilmente. Assim, a desacetilação da quitina em meio alcalino, se processa de modo heterogêneo, formando sequências de unidades modificadas e de unidades que não sofreram modificação (SANTOS et al., 2003).

A quitina e a quitosana, portanto, são materiais de grande interesse industrial, no qual estabelece parâmetros como a solubilidade, para que sejam

aplicadas em diversas formas, e em diferentes áreas do conhecimento (RAVI KUMAR, 2000).

No entanto, a solubilidade depende do meio em que a quitosana será aplicada. Na indústria alimentícia, por exemplo, é necessária a modificação da estrutura da quitosana para que esta solubilidade aumente em uma faixa mais ampla de pH (KLINKESORN, 2013).

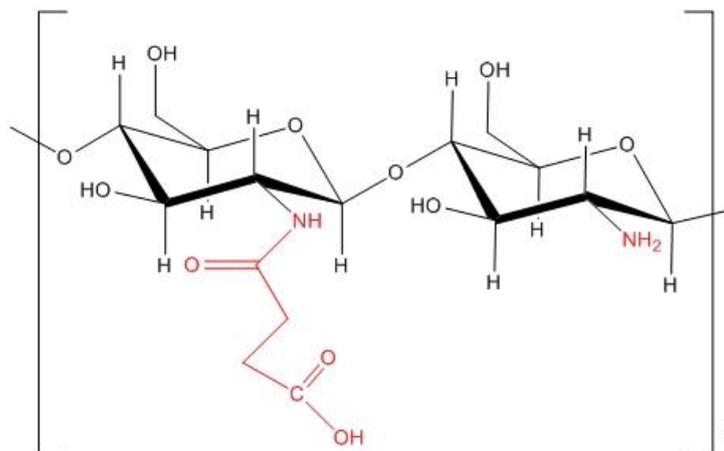
### 1.7.3 Succinil quitosana

Um dos meios para aumentar a faixa de solubilidade da quitosana em função do pH, é a modificação do polímero, que dentre as quais destaca-se a acilação. A reação da quitosana com cloretos de acila e anidridos carboxílicos é denominada acilação. A acilação ocorre nos sítios reativos já discutidos anteriormente, no grupamento amino ou hidroxil. Quando a acilação ocorre no grupo amina, a substituição é chamada N-acilação; e quando ocorre no grupo hidroxila, ela é chamada de O-acilação (LIANG et al., 2009)

A N-acilação é a modificação da quitosana mais extensivamente usada. Ela procede em meio hidroalcoólico em presença de ácido acético. A N-acilação tipicamente se processa formando um grupo funcional amida, o qual é bem estável. A exigência do meio hidroalcoólico se dá por conta da baixa solubilidade de anidridos em meio aquoso (BASHIR et al., 2015).

Dentre os possíveis anidridos destaca-se o anidrido succínico. A introdução deste anidrido na estrutura da quitosana resulta na formação de uma carboxiacila, à qual se forma por meio da introdução de anidridos cíclicos à estrutura da glicosamina. O grau de succinilação desta reação pode ser determinado através de ensaio por cromatografia de exclusão em gel. Este grau de succinilação depende das condições reacionais. A N-succinil quitosana (Figura 7) formada tem excelente solubilidade em pH abaixo de 4,5 e acima de 7,0, sendo essa solubilidade em meio ácido e em meio básico relacionada à formação de íons carboxilatos e da protonação dos grupos amina (SUI et al., 2008; KUMAR et al., 2013).

Figura 7. Estrutura molecular da N-succinil quitosana



(NA et al., 2013)Fonte: Autor.

A N-succinil quitosana, como já visto anteriormente, é solúvel em uma ampla faixa de pH. Devido ao seu caráter anfiprótico, é solúvel tanto em meio ácido como em meio básico. Entretanto, sua solubilidade em meio aquoso depende diretamente do grau de acilação e das condições de preparação. A solubilidade em meio aquoso pode ser explicada através do aumento dos grupos carboxilas, decorrentes do processo de substituição (SUI et al., 2008).

Conforme esses grupos aumentam, devido à acetilação, as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e os grupos carboxilas aumentam. Também aumentam as ligações de hidrogênio intermoleculares de dois grupos carboxilatos, de forma que a solubilidade em água será resultado do balanço de interação entre as moléculas de carboxilatos com o solvente e as ligações de hidrogênio (KAYA et al., 2014).

Considerando que o grau de acetilação aumenta o número de grupos carboxilas, é razoável pensar que os dois efeitos cresçam juntos. Esse aumento das ligações de hidrogênio também fará com o que o derivado N-succinil tenha uma capacidade elevada de reter umidade, fazendo com que este seja empregado como agente umectante em escala industrial (SUI et al., 2008).

Outro papel importante que pode ser aplicado por esta estrutura é como agente emulsificante. Normalmente esses agentes emulsificantes são classificados com base em um balanço hidrofílico-lipofílico indicando a solubilidade do surfactante em óleo ou em água, podendo ser usada para prever o tipo de emulsão que será formada pelo surfactante (KLINKESORN, 2013).

Esse balanço hidrofílico-lipofílico é usado largamente para surfactantes e seu valor para succinil quitosana foi reportado em alguns estudos. Para determiná-lo foi deixado cair uma gota de tolueno em uma superfície de quitosana, em uma solução aquosa ácida em 1 %. Esse diâmetro foi comparado com o observado para diversos surfactantes, constatando que o valor do balanço da quitosana estava entre 34 e 37, indicando que a quitosana pode formar emulsões óleo em água (BASHIR et al., 2015; RODRÍGUEZ; ALBERTENGO; AGULLÓ, 2002).

Essa capacidade emulsificante pode ser atribuída à heterogeneidade apresentada por este polímero, pois o principal monômero encontrado neste aminopolissacarídeo é a D-glucosamina, a qual é fortemente hidrofílica. Em contrapartida, outros monômeros que compõe a estrutura são de N-acetil-glucosamidas, levando a partes do polímero mais hidrofóbicas.

Esse caráter anfifílico faz com que os resíduos hidrofóbicos se localizem mais na fase óleo, enquanto os resíduos hidrofílicos se localizem mais na fase água. A propriedade de adsorção da quitosana também acaba por reduzir a área de contato entre o óleo e a água, na interface óleo-água, o que pode reduzir a tensão interfacial (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009; ZINOVIADOU et al., 2012).

Por conta destas diversas propriedades, a quitosana vem sendo bastante aplicada. Na indústria alimentícia, a quitosana é empregada devido sua ação antimicrobiana, conservante, emulsificante, na produção de microcápsulas, na capacidade de formar filmes e na substituição de gordura em sistemas alimentícios (ESTEVINHO et al., 2013; HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016; TORRICO et al., 2014)

Neste contexto, conclui-se que há um campo extenso para exploração da quitosana e seus derivados na indústria alimentícia, e que para isso, o conhecimento de suas propriedades é fundamental.

## REFERÊNCIAS

ABESO. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA (ABESO). Disponível em: <http://www.abeso.org.br/atitude-saudavel/mapa-obesidade>. Acesso em: 10 de out. 2018

ABIMAPI. Associação Brasileira Das Indústrias De Biscoitos, Massas Alimentícias e Pães & Bolos Industrializados. Disponível em: <https://www.abimapi.com.br/estatistica-paes-bolos.php>. Acesso em: 03 de set. de 2018.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN N° 28, DE 26 DE JULHO DE 2018**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/417403/IN+n+28%2C+de+2018/df781ca5-1024-4836-ab1e-8cd56fbd4789>. Acesso em: 15 de out. 2018.

ABIMAPI. Associação Brasileira Das Indústrias De Biscoitos, Massas Alimentícias e Pães & Bolos Industrializados. Disponível em: <https://www.abimapi.com.br/estatistica-paes-bolos.php>. Acesso em: 03 de set. de 2018.

ALMEIDA, P. F. DE. **Aplicação de gelatina obtida de subproduto animal como substituto parcial de gordura em spread de chocolate Poliana**. [s.l.: s.n.].

BASHIR, S. et al. N-succinyl chitosan preparation, characterization, properties and biomedical applications: a state of the art review. **Reviews in Chemical Engineering**, v. 31, p. 563–597, 2015.

BEIL, S. et al. Determination of the degree of N-acetylation (DA) of chitin and chitosan in the presence of water by first derivative ATR FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 1, p. 117–122, 2012.

BESSA-JUNIOR, A. P.; GONÇALVES, A. A. Análises econômica e produtiva da quitosana extraída do exoesqueleto de camarão. **Actapesca**, v. 1, p. 13–28, 2013.

BROOKER, B. E. et al. **The Stabilization of Air in Cake Batters - the Role of FatFood Structure**, 1993.

CAUVAIN, S. YOUNG, L. S. The relevance of testing to the manufacture of biscuits (cookies), cakes and pastries. In: **The ICC handbook of cereals, flours, dough & product testing**. 1.ed. UK. DEStech Publications, 2009, 157 - 180.

CORNEJO, F.; ROSELL, C. M. Influence of germination time of brown rice in relation to flour and gluten free bread quality. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 10, p. 6591–6598, 2015.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennemas Food Chemistry**. Fourth ed. CRC Press, 2008.

DASH, M. et al. Chitosan - A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 36, n. 8, p. 981–1014, 2011.

DE ALVARENGA, E. S.; PEREIRA DE OLIVEIRA, C.; ROBERTO BELLATO, C. An approach to understanding the deacetylation degree of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 4, p. 1155–1160, 2010.

DHEN, N. et al. Particle size distribution of soy flour affecting the quality of enriched gluten-free cakes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 179–185, 2016.

DICKINSON, E. Food emulsions and foams: Stabilization by particles. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 15, n. 1–2, p. 40–49, 2010.

DOMÉNECH-ASENSI, G. et al. Influence of the reformulation of ingredients in bakery products on healthy characteristics and acceptability of consumers. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 67, n. 1, p. 74–82, 2016.

EL-HEFIAN, E. A. Characterization of chitosan in acetic acid: Rheological and thermal studies. **Turk J Chem**, v. 34, p. 47–56, 2010.

ESTEVINHO, B. N. et al. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications - A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 31, n. 2, p. 138–155, 2013.

FREEMAN, H. J. Celiac disease: A disorder emerging from antiquity, its evolving classification and risk, and potential new treatment paradigms. **Gut and Liver**, v. 9, n. 1, p. 28–37, 2015.

GHOTRA, B. S.; DYAL, S. D.; NARINE, S. S. Lipid shortenings: A review. **Food Research International**, v. 35, n. 10, p. 1015–1048, 2002.

GIGLIOTTI, J. C.; JACZYNSKI, J.; TOU, J. C. Determination of the nutritional value, protein quality and safety of krill protein concentrate isolated using an isoelectric solubilization/precipitation technique. **Food Chemistry**, v. 111, n. 1, p. 209–214, 2008.

GOMÉZ, M.; et al. Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cake. **Food hydrocolloids**, v. 21, p. 169, 2007.

GÓMEZ H., C. et al. Vegetable nanocellulose in food science: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 178–186, 2016.

GÓRNAŚ, P. et al. The impact of different baking conditions on the stability of

the extractable polyphenols in muffins enriched by strawberry, sour cherry, raspberry or black currant pomace. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 946–953, 2016.

GULARTE, M. A. et al. Effect of different fibers on batter and gluten-free layer cake properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 48, p. 209–214, 2012.

HAJJI, S. et al. Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, p. 298–306, 2014.

HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; REGENSTEIN, J. M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 40–50, 2016.

HASHIMOTO, Y. et al. Three dissimilar high fat diets differentially regulate lipid and glucose metabolism in obesity-resistant Slc:Wistar/ST rats. **Lipids**, v. 48, n. 8, p. 803–15, 2013.

HOOOPER, L. et al. Reduction in saturated fat intake for cardiovascular disease. **The Cochrane database of systematic reviews**, v. 6, n. 6, p. CD011737, 2015.

INDRANI, D; RAO, G. V. Functions of ingredients in the baking of sweet goods. In: SUMNU, S.G; SAHIN, S. **Food Engineering Aspects of Baking Sweet Goods**. 1.ed. New York. CRC Press, 2008, cap2, p. 31 - 47.

KADAM, S. U.; PRABHASANKAR, P. Marine foods as functional ingredients in bakery and pasta products. **Food Research International**, v. 43, n. 8, p. 1975–1980, 2010.

KAYA, M. et al. A physicochemical characterization of fully acetylated chitin structure isolated from two spider species: With new surface morphology. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, p. 553–558, 2014.

KLINKESORN, U. The role of chitosan in emulsion formation and stabilization. **Food Reviews International**, v. 29, p. 371–393, 2013.

KUMAR, R. et al. Performance improvement of polysulfone ultrafiltration membrane using N-succinyl chitosan as additive. **Desalination**, v. 318, p. 1–8, 2013.

KUMARI, R. et al. Use of vegetable oils, emulsifiers and hydrocolloids on rheological, fatty acid profile and quality characteristics of pound cake. **Journal of Texture Studies**, v. 42, n. 5, p. 377–386, 2011.

LEE, K. Y.; PARK, S. Y.; LEE, H. G. Effect of oat  $\beta$ -glucan and its oxidised derivative on the quality characteristics of sponge cake. **International Journal**

of **Food Science and Technology**, v. 46, n. 12, p. 2663–2668, 2011.

LEE, S.; KIM, S.; INGLETT, G. E. Effect of shortening replacement with oatrim on the physical and rheological properties of cakes. **Cereal Chemistry**, v. 82, n. 2, p. 120–124, 2005.

LIANG, S. et al. A new preparation method of succinyl chitosan. **Gao Xiao Hua Xue Gong Cheng Xue Bao/Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities**, v. 23, n. 5, p. 901–905, 2009.

MANCIBO, C. M.; RODRIGUEZ, P.; GÓMEZ, M. Assessing rice flour-starch-protein mixtures to produce gluten free sugar-snap cookies. **LWT - Food Science and Technology**, v. 67, p. 127–132, 2016.

MARANGONI, A. G. et al. Structure and functionality of edible fats. **Soft Matter**, v. 8, p. 1275, 2011.

MARTÍNEZ-CERVERA, S. et al. Rheological, textural and sensorial properties of low-sucrose muffins reformulated with sucralose/polydextrose. **LWT - Food Science and Technology**, v. 45, n. 2, p. 213–220, 2012.

MARTÍNEZ-CERVERA, S. et al. Effect of Nutriose on Rheological, Textural and Sensorial Characteristics of Spanish Muffins. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 8, p. 1990–1999, 2013.

MATOS, M. E.; SANZ, T.; ROSELL, C. M. Establishing the function of proteins on the rheological and quality properties of rice based gluten free muffins. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 150–158, 2014.

MAYER, H. et al. Development of an all rice malt beer: A gluten free alternative. **LWT - Food Science and Technology**, v. 67, p. 67–73, 2016.

MÉJEAN, M. et al. Quantification of retinoid compounds by supercritical fluid chromatography coupled to ultraviolet diode array detection. **Chromatographia**, v. 76, n. 17–18, p. 1097–1105, 2013.

MOHAMMADI, M. et al. Development of gluten-free flat bread using hydrocolloids: Xanthan and CMC. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 1812–1818, 2014.

MOURYA, V. K.; INAMDAR, N. N. Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore. **Reactive and Functional Polymers**, v. 68, n. 6, p. 1013–1051, 2008.

NA, L. et al. A novel permeation enhancer: N-succinyl chitosan on the intranasal absorption of isosorbide dinitrate in rats. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 1–2, p. 301–306, 2013.

O'BRIEN, R. D. Fats and oils formulation. In: **Fats and oils: Formulating and processing for applications**. 3.ed. Boca Raton: CRC press, 2009. cap.4, p.263 - 345.

OKUDA, T.; KIYOTA, M. Analysis of variability of krill size and fish by-catch in the Japanese krill fishery based on scientific observer data. **CCAMLR Science**, v. 19, p. 31–47, 2012.

PADHI, E. M. T. et al. Liking of soy flour muffins over time and the impact of a health claim on willingness to consume. **Food Research International**, v. 77, p. 491–497, 2015.

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, p. 641–678, 2009.

PYLER, E. J.; GORTON, L. A. Basic food science. In.: **Baking Science and Technology**. 4 ed. Sosland Publishing Company, 2008. cap.1, p. 1 - 112.

RAVI KUMAR, M. N. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1–27, 2000.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 31, p. 603–632, 2006.

RIOS, R. V. et al. Application of fats in some foods products. **Food Science and Technology**, v. 34, p. 3–15, 2014.

RODRIGUEZ, E. et al. Effect of modified cassava starch as a fat replacer on the texture and quality characteristics of muffins. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. DOI: 10.10, n. 0, p. 0, 2017.

RODRÍGUEZ, M. S.; ALBERTENGO, L. A.; AGULLÓ, E. Emulsification capacity of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, n. 3, p. 271–276, 2002.

SANTOS, J. E. DOS et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros**, v. 13, n. 4, p. 242–249, 2003.

SALAS, A. G. V. **Elaboração de produtos com características funcionais a base de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)** São Paulo: Universidade de São Paulo, 2008. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica Área de Alimentos – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, 2011.

SCHIRMER, M. et al. Physicochemical interactions of polydextrose for sucrose replacement in pound cake. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 291–298, 2012.

SAHI, S. S. Cake emulsions. In: SUMN, S.G.; SAHIN, S. **Food Engineering Aspects of Baking Sweet Goods**. 1.ed. Boca Raton: CRC Press, 2008, cap.4, p.81-98.

SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V.; JEON, Y. J. Food applications of chitin and chitosans. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, n. 2, p. 37–51,

1999.

SHELTON, A. O. et al. Among-year variation in growth of Antarctic krill *Euphausia superba* based on length-frequency data. **Marine Ecology Progress Series**, v. 481, p. 53–67, 2013.

SOWMYA, M; et al. Effect of replacement of fat with sesame oil and additives on rheological, microstructural, quality characteristics and fatty acid profile of cakes. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1827, 2009.

SUI, W. et al. Preparation and properties of an amphiphilic derivative of succinyl-chitosan. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 316, n. 1–3, p. 171–175, mar. 2008.

TAYLOR, P. et al. International Journal of Food Properties Effect of Processing on Instrumental Textural Properties of Traditional Dodol Using Back Extrusion. n. October 2012, p. 37–41, 2011.

TORRICO, D. D. et al. Quality of eggs coated with oil-chitosan emulsion: Combined effects of emulsifier types, initial albumen quality, and storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 35–41, 2014.

TMR. TRANSPARENCY MARKET RESEARCH. Disponível em: <https://www.transparencymarketresearch.com/pressrelease/chitosan-industry.htm>. Acesso em 15 de out. 2018.

VALVASSORI, S. Tendências da alimentação. Disponível em: <http://www.simonevalvassori.com.br/noticias/noticias/68-tendencias-da-alimentacao>. Acesso em: 15 de out. 2018.

WANG, C.; ESKER, A. R. Nanocrystalline chitin thin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, n. 1, p. 151–158, 2014.

WANG, L. et al. Extraction of Proteins with Low Fluoride Level from Antarctic Krill ( *Euphausia superba* ) and Their Composition Analysis. p. 6108–6112, 2011.

WANG, Y. et al. Crystalline structure and thermal property characterization of chitin from Antarctic krill (*Euphausia superba*). **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 1, p. 90–97, 2013.

WATKINS, J. L. et al. The use of fishing vessels to provide acoustic data on the distribution and abundance of Antarctic krill and other pelagic species. **Fisheries Research**, v. 178, p. 93–100, 2016.

WIJESUNDERA, C., RICHARDS, A.; CECCATO, C. Industrially produced trans fat in foods in Australia. **Journal of the American oil chemists' society**, v. 84, p. 433-442, 2007.

WILDERJANS, E. et al. The role of gluten in a pound cake system: A model

approach based on gluten-starch blends. **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 909–915, 2008.

WILDERJANS, E. et al. Ingredient functionality in batter type cake making. **Trends in Food Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 6–15, 2013.

WU, S. et al. The efficient hemostatic effect of Antarctic krill chitosan is related to its hydration property. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 295–303, 2015.

YEN, M. T.; YANG, J. H.; MAU, J. L. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 1, p. 15–21, 2009.

ZAMBRANO, F. et al. The use of guar and xanthan gums in the production of “light” low fat cakes. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, n. 9, p. 959–966, 2004.

ZINOVIADOU, K. G. et al. Engineering interfacial properties by anionic surfactant-chitosan complexes to improve stability of oil-in-water emulsions. **Food & function**, v. 3, n. 3, p. 312–9, 2012.



## CAPÍTULO 2

### Síntese e caracterização de succinil quitosana a partir do krill Antártico (*Euphausia superba*)

#### RESUMO

A partir do exoesqueleto do krill Antártico (*Euphausia superba*) obtém-se um material quitinoso, rígido, cristalino e insolúvel. Derivados de quitosana são obtidos para melhorar propriedades como solubilidade, biodisponibilidade e toxicidade. O objetivo deste estudo foi obter e caracterizar a succinil quitosana (SQ) para aplicação em bolos, avaliando suas propriedades. Hidrólise alcalina foi realizada para desacetilação da quitina, seguida de succinilação com etanol e anidrido succínico, resultando em succinil quitosana. O teste de solubilidade, e o grau de substituição por titulação potenciométrica da SQ foram medidos. As bandas de absorção e o grau de desacetilação foram estabelecidos por infravermelho por reflexão total atenuada com Transformada de Fourier (ATR - FTIR). O perfil cristalino foi obtido pelo método de difração de raio X (DRX). As propriedades térmicas dos materiais foram determinadas por termogravimetria (TG/DTG/DTA) e por calorimetria exploratória diferencial (DSC). Os resultados mostraram que a SQ é solúvel em meio ácido, neutro e básico, como esperado, promovendo a substituição do grupo amino pelo grupo succinil. O grau de substituição da SQ foi de 75 %. O espectro de ATR apresentou picos em  $1556\text{ cm}^{-1}$  atribuídos à amida II, característica da estrutura da quitina. Já no espectro da quitosana notou-se claramente a diminuição desta banda refletindo a diferença estrutural das estruturas. De fato, a restauração desta banda na estrutura da SQ foi observada em  $1646\text{ cm}^{-1}$  e em  $1556\text{ cm}^{-1}$  devido a succinilação. O resultado do cálculo de desacetilação da estrutura da quitosana foi de 77 %, confirmando a modificação química. Picos bem definidos foram vistos no difratograma da quitina (planos 020 e 110), um perfil semi-cristalino na estrutura da quitosana, e ausência de picos no perfil da SQ, comprovando a perda de cristalinidade típica de sua estrutura. Os resultados das propriedades térmicas apresentaram diferenças entre os materiais na temperatura inicial e máxima de decomposição e perda de massa. A resistência térmica dependeu da estrutura das amostras determinando-se o seguinte comportamento: quitina > quitosana > succinil quitosana. Os resultados de DSC apresentam comportamento endotérmico na faixa de  $100\text{ °C}$  em todos os polímeros devido à evaporação da água, e comportamento exotérmico na faixa de  $250 - 350\text{ °C}$ , característicos da decomposição. Desta maneira, após a elucidação das propriedades dos materiais, pode-se validar todas as sínteses ocorridas (desacetilação e succinilação) e avaliar as propriedades térmicas dos polímeros para a aplicação em formulações de bolos, considerando que são produtos forneados.

**Palavras-chave:** derivado de quitosana, succinil quitosana, krill Antártico, subproduto pesqueiro.



## 1. INTRODUÇÃO

A quitosana (2-acetamido-2-desoxi- $\beta$ -D glucopiranosose e 2-amino-desoxi- $\beta$ -D glucopiranosose) é um derivado desacetilado da quitina, o segundo biopolímero natural mais abundante após a celulose, convencionalmente obtido por desacetilação termoquímica em meio alcalino (NaOH concentrado). As principais fontes de quitosana vêm de cascas de animais como camarão, caranguejo e krill, além da parede celular de fungos e leveduras (HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016; SEONG; YUN; PARK, 2018; WU et al., 2015).

A quitosana tem sido considerada um excelente produto devido a propriedades como biodisponibilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade e versáteis atividades biológicas, sendo aplicada em diversas áreas como farmacêutica, tecidual de engenharia, cosmética e alimentícia (LAFARGA et al., 2013; SZYMAŃSKA; WINNICKA, 2015; WANG et al., 2013).

Entretanto, sua baixa solubilidade em meio aquoso e sua insolubilidade em meio alcalino limitam a aplicação de quitosana. Por exemplo, a entrega de fármaco por quitosana diminui a um pH mais elevado devido à sua fraca solubilidade a um pH superior a 6,0. Nesse caso, para melhorar a função da quitosana, pesquisadores têm sido motivados a modificar a estrutura da quitosana para estender sua aplicação (BASHIR et al., 2015; PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009; SZYMAŃSKA; WINNICKA, 2015).

Na literatura, diferentes métodos de síntese de derivados de quitosana têm sido relatados para melhorar as propriedades da quitosana (DUAN et al., 2017; KATO; ONISHI; MACHIDA, 2001; MOURYA; INAMDAR, 2008). Alquilação, carboxialquilação, fosforilação, derivados de açúcar e N-acilação (carboxilacilação) são alguns dos vários métodos de modificação de quitosana (BASHIR et al., 2016; PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009). N-acilação é a modificação de quitosana mais amplamente estudada.

Os anidridos ácidos são amplamente utilizados para a N-acilação da quitosana; por exemplo, anidridos succínico, mirístico, propiônico e láurico. A formação de carboxilato ocorre após a introdução destes em quitosana. Entre esses anidridos, a reação do anidrido succínico com a quitosana em ácido acético / etanol produz succinil quitosana (SQ) com um grau específico de succinilação (BASHIR et al., 2015; DE MELLO, 2009).

SQ apresenta excelente solubilidade abaixo de pH 4,5 e acima de pH 7. Sua solubilidade em ambiente ácido é devida à protonação de grupos amino, enquanto que em ambiente básico é devido à formação de grupos carboxila (-COO-) (BASHIR et al., 2015; KAMOUN, 2016). Devido à presença de um alto grau de substituição na cadeia polimérica, o derivado SQ é um produto solúvel em água, cuja solubilidade ocorre em diferentes pHs.

Além disso, a modificação química promove a biocompatibilidade e, especialmente, a SQ não tem toxicidade, uma vez que seus produtos de biodegradação são metabólitos do ciclo de Krebs (SKORIK et al., 2017a). Por essas razões, os pesquisadores estudaram a síntese, suas propriedades e aplicações de derivados carboxiláclicos da quitosana.

Um estudo realizado por Skorik et al. (2017) compararam a reação dos anidridos succínico (SQ) e glutárico (GC) com quitosana em condições homogêneas e heterogêneas e sua atividade anticoagulante e antiplaquetária. O tempo de reação foi ajustado para 1-2 h até atingir a saturação, propondo uma reação simples e heterogênea. Além disso, os resultados mostraram ação anticoagulante similar para ambos os derivados SQ e GC e melhor compatibilidade hemo-compatível com SQ (SKORIK et al., 2017a).

Mais estudos com o derivado de quitosana incluem nanopartículas de SQ como sistemas de liberação de fármacos para drogas anticâncer (SKORIK et al., 2017b), preparação de lipossomas multicamadas de quitooligossacarídeo e SQ (SEONG; YUN; PARK, 2018) e produção de micelas carregadas com siRNA usando esses copolímeros. (ZHANG et al., 2016).

O objetivo deste capítulo foi obter o derivado SQ tendo como material de partida a quitina do krill Antártico, caracterizando os materiais e elucidando suas propriedades para aplicação em formulações de bolos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Materiais

Os reagentes e os equipamentos utilizados para as sínteses da quitosana e da succinil quitosana estão apresentados no Quadro 1.

Quadro 1. Lista de materiais e equipamentos para sínteses de quitosana e succinil quitosana

Reagentes e Equipamentos	Marcas
Hidróxido de sódio 50 % P.A.	Synth®, Brasil
Ácido acético glacial 99,8 % P.A.	Synth®, Brasil
Álcool etílico 99,5 % P.A.	Synth®, Brasil
Anidrido succínico 99,9 %	Mercke
Chapa elétrica RH basic	IKA, Brasil
Balança analítica Adventurer	Toledo, Brasil
pHmetro SevenEasy	Metler Toledo, EUA
Agitador mecânico digital 713D	Fisatom, Brasil
Bomba à vácuo MA 030	Marconi, Brasil
Ultra freezer -86°C modelo 378L	Tectal-Maq, Brasil
<sup>1</sup> Liofilizador modelo Pirani 501	Edwards do Brasil, Brasil

<sup>1</sup> Parâmetros: pressão =  $10^{-3}$  mbar, temperatura = -50,0°C

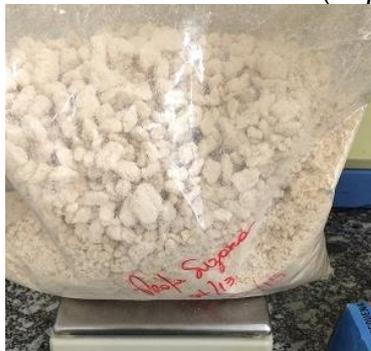
### 2.2. Métodos

#### 2.2.1 Obtenção da quitina

A quitina do krill Antártico (Figura 1) cedida pelo Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho, do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (USP) para a realização deste trabalho

foi previamente sintetizada conforme Tenuta-Filho e Alvarenga (1999) (TENUTA-FILHO; ALVARENGA, 1999).

Figura 1. Quitina desidratada do krill Antártico (*Euphausia superba*)



### 2.2.2 Obtenção de quitosana e succinil quitosana

A quitosana e seu derivado foram obtidos a partir da quitina, como descrito no item 2.2.1. previamente sintetizada do exoesqueleto do krill Antártico (*Euphausia superba*), conforme a metodologia de Gargioni et al. 2006, com algumas modificações afim de viabilizar sua aplicação em formulações alimentícias (MELLO et al., 2006).

#### ➤ Síntese de quitosana e succinil-quitosana

A partir da quitina obtida do krill Antártico, o material foi submetido à reação de desacetilação que corresponde à hidrólise em meio básico em uma solução de hidróxido de sódio concentrada (50 %), sob aquecimento à temperatura de 130°C em chapa elétrica por 3 h. Após o resfriamento, o material foi lavado sucessivas vezes com água destilada até sua neutralidade e filtrado. Na etapa seguinte, a quitosana foi suspensa (2,0 % m/v) em solução aquosa de ácido acético a 4,0 % v/v e pH 4,0, sob agitação. Essa solução então foi filtrada para remoção de qualquer tipo de sujidades. Estas etapas estão ilustradas na Figura 2. Considera-se então, que ao final desta etapa, o

produto final é um material com grau de desacetilação maior que 50 % o qual denomina-se quitosana.

Figura 2. Desacetilação, lavagem em água destilada e filtração da quitosana



Antes de iniciar a síntese de succinilação é necessário calcular o peso seco deste material, pois este valor será utilizado para calcular a quantidade de anidrido succínico e do etanol na etapa seguinte. Para tanto, após a filtração, a quitosana foi precipitada com NaOH (3,0 M, m/v) e filtrada. Uma amostra do material é pesada, e seca em estufa à 75 °C, até obter o peso constante. A partir disto, calcula-se o peso seco do material.

Para a reação de succinilação, a quitosana foi suspensa em meio ácido novamente (ácido acético 4,0 % m/v e 2,0 % m/v de quitosana). Adicionou-se o álcool etílico (1L/g de quitosana) e o anidrido succínico em pó (3,0 g/g quitosana) aos poucos diretamente no meio reacional. Seguiram-se 3 horas de agitação (~500 rpm) em agitador mecânico e 12 horas de repouso ou *overnight* (Figura 3).

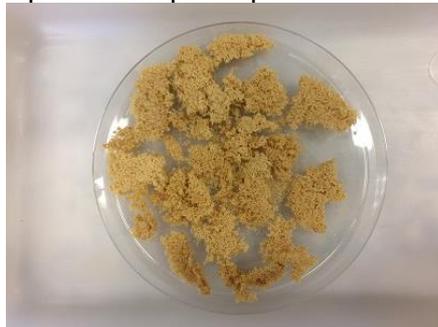
Figura 3. Etapas da síntese de succinilação da quitosana



Após o repouso, o material foi filtrado e lavado com álcool etílico. Posteriormente, a succinil quitosana foi suspensa em meio básico (3,0 M NaOH, pH 8,0) afim de eliminar qualquer espécie indesejada (material não sintetizado, e ou sujidades) por meio de filtração. Após isso, precipitou-se a

succinil quitosana com a adição etanol ao meio, seguida de filtração à vácuo, e sucessivas lavagens com etanol (processo de purificação). O produto final retido foi mantido em dessecador para eliminação do álcool remanescente (Figura 4).

Figura 4. Succinil quitosana após o processo de secagem do etanol



## 2.3 Caracterizações dos polímeros

### 2.3.1 Teste de solubilidade

O teste de solubilidade da quitina, quitosana e succinil quitosana foi avaliado sob diferentes condições em concentração de 2,0 % (m/v). As amostras foram solubilizadas em meio ácido (4,0 % (v/v) de ácido acético; pH = 4,0), meio neutro (água destilada; pH = 7,0) e meio alcalino (NaOH 0,1 M; pH = 10) a 25 °C. mexendo a 600 rpm (Fisatom 713D, Brasil) por 6h. A solubilidade das soluções foi observada após o tempo (MELLO et al., 2006).

### 2.3.2 Grau de substituição (GS) da succinil quitosana

Os dados para o cálculo do grau de substituição da succinil quitosana foram obtidos pelo método de titulação potenciométrica (GE; LUO, 2005; MUKHOPADHYAY et al., 2013). 0,1 g de succinil quitosana foi solubilizado em 20,0 ml de solução aquosa de água destilada, ajustando o pH a 2 com ácido clorídrico 0,1M. A solução foi então titulada com NaOH 0,1 M e o grau de substituição foi calculado de acordo com as Equações 1 e 2:

$$DS (\%) = \frac{177 \times A}{m_{SC} - 102 \times A} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

$$A = V_{NaOH} \times C_{NaOH} \quad (\text{Eq. 2})$$

onde,  $V_{NaOH}$  e  $C_{NaOH}$  corresponde ao volume (mL) e a concentração de NaOH (mol/L), respectivamente. A massa (g) da succinil quitosana é designada  $m_{SC}$  e os valores 177 e 102 são as massas molares da unidade de glucosamina e do grupo succinil, respectivamente.

### 2.3.3 Espectroscopia no infravermelho e grau de desacetilação

A quitina, quitosana e succinil quitosana foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier a partir do espectrofotômetro modelo Alpha (Bruker, Alemanha) empregando a técnica de reflexão total atenuada ATR-FTIR (*Attenuance Total Reflectance - Fourier Transformed Infrared*) (cristal de germânio) na faixa de  $4000 \text{ cm}^{-1}$  –  $600 \text{ cm}^{-1}$ . Esta técnica foi realizada no Instituto de Química (IQ), no Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia da Universidade de São Paulo.

Para o cálculo do grau de desacetilação (GD) utilizou-se a Equação 3 conforme os valores das áreas dos picos em  $1665$  e  $3450 \text{ cm}^{-1}$ , associadas a carbonila e hidroxila, respectivamente (KASAAI, 2010).

$$GD = 100 - (A_{1665}/A_{3450}) \times 100/ 1,33 \quad (\text{Eq. 3})$$

### 2.3.4 Difração de raios X - DRX

Os materiais foram analisados em difratômetro Bruker D-8 Advance (Bruker, Alemanha) tubo de cobre  $K\alpha$  (30 mA-40 kV) em intervalo  $2\theta$   $2^\circ$ -  $40^\circ$ . As análises foram realizadas no Laboratório de difração de raios X, no Instituto de Geociências (GEO/USP).

### 2.3.5 Análises térmicas - TG/DTG/DTA e DSC

#### ➤ **Termogravimetria (Thermogravimetric -TG/ Derivative Thermogravimetric - DTG / Differential Thermoanalysis - DTA)**

As análises termogravimétricas foram realizadas em termo analisador DTG-60 (SHIMADZU) de acordo com os seguintes parâmetros: i) atmosfera inerte de nitrogênio (50 mL/min) faixa de temperatura entre 30 °C à 600 °C, com taxa de aquecimento de 10°C/min. Aproximadamente 5,0 mg de amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana foram pesadas e colocadas em panela de platina aberta. As curvas TG/DTG/DTA foram analisadas no software TA Acquisition do próprio equipamento. Os ensaios foram realizados no Instituto de Química (IQ), no Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia da Universidade de São Paulo.

#### ➤ **Calorimetria exploratória diferencial (Differential Scanning Calorimeter - DSC)**

Foram realizadas as análises usando um equipamento de DSC modelo i650 (Instruments Specialists,USA) em atmosfera inerte (gás nitrogênio, 10 cc/min), à taxa de aquecimento constante de 20 °C/min na faixa de 30°C – 400°C. Aproximadamente 5,0 mg de material (quitina, quitosana e succinil quitosana) foram pesados e colocados em panela de alumínio fechada; uma panela vazia foi usada para a referência. Utilizou-se o material índio para a calibração do equipamento. Os dados de  $T_{onset}$  (°C),  $T_{peak}$ ,  $T_{final}$  (°C) e  $\Delta H$  (J/g) foram coletados e analisados com o pacote Infinity Pro Software do equipamento (WANG et al., 2013).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

São apresentados a seguir os resultados da caracterização da quitina, quitosana e succinil quitosana, para posterior aplicação em *muffins* como substituto de gordura.

#### 3.1 Solubilidade dos polímeros em diferentes meios

A solubilidade da quitina krill, quitosana e succinil quitosana em diferentes condições foi apresentada na Tabela 1. Como esperado, a solubilidade da quitina era insolúvel para qualquer meio analisado. A quitina tem uma estrutura cristalina rígida tridimensional formada em grande parte por ligações de hidrogênio, visto anteriormente pela análise de difração de raios X, que faz parte da composição do exoesqueleto de crustáceos, artrópodes e parede celular de alguns fungos, o que impede sua interação com o meio (MOURYA; INAMDAR, 2008; PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009).

Por outro lado, a quitosana apresentou baixa solubilidade em meio aquoso, insolúvel em pH 8,0 e mostrou solúvel em ácido acético. O mecanismo de solubilização da quitosana envolve a protonação do grupo funcional amino (posição C-2 das unidades de glucosamina) na cadeia polimérica, aumentando assim a faixa de solubilidade e permitindo aplicações em pH abaixo do pKa de quitosana em torno de 6,5 (BASHIR et al., 2015; KATO; ONISHI; MACHIDA, 2004). Fatores como massa molar e grau de desacetilação interferem no grau de solubilidade da quitosana, assim como no grau de ionização que, por sua vez, depende da força do ácido e do pH.

A succinil quitosana mostrou-se solúvel em todos os meios testada, comprovando a eficácia da reação de succinilação na estrutura da quitosana. A modificação da quitosana pela reação de N-acilação (etanol / meio ácido acético) promoveu a substituição do grupo amino pelo grupo succinil exibindo solubilidade aquosa no grau de substituição na faixa de 0,45-0,8 e na faixa de pH 4,0 a 7,0 (BASHIR et al., 2015).

Tabela 1. Solubilidade da quitina, quitosana e succinil quitosana em diferentes meios

Amostras (2,0 %)	4,0 % Ácido acético (pH = 4)	Água destilada (pH = 7)	0.1 M NaOH (pH = 10)
Quitina	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel
Quitosana	Solúvel	Pouco solúvel	Insolúvel
Succinil quitosana	Solúvel	Solúvel	Solúvel

Como esperado, a quitosana após a modificação química tornou-se solúvel em diferentes pHs, garantindo a solubilidade da succinil quitosana em água para sua aplicação nas massas dos bolos.

### 3.2. Cálculo do grau de substituição da succinil quitosana

O grau de substituição refere-se ao cálculo do número médio de grupos amino substituintes de quitosana ligados pelo grupo succinil (por unidades monoméricas) (BASHIR et al., 2016). Nesse caso, o grau médio de substituição encontrado foi de 75%. A vantagem de introduzir o grupo succinil na cadeia polimérica de quitosana é melhorar a solubilidade do material (em meios ácidos e neutros), o que aumenta a possibilidade de aplicações em diferentes áreas, como biomédica, farmacêutica, cosmética e alimentícia, o qual se enquadra o objetivo do trabalho.

### 3.3. Espectroscopia na região do infravermelho

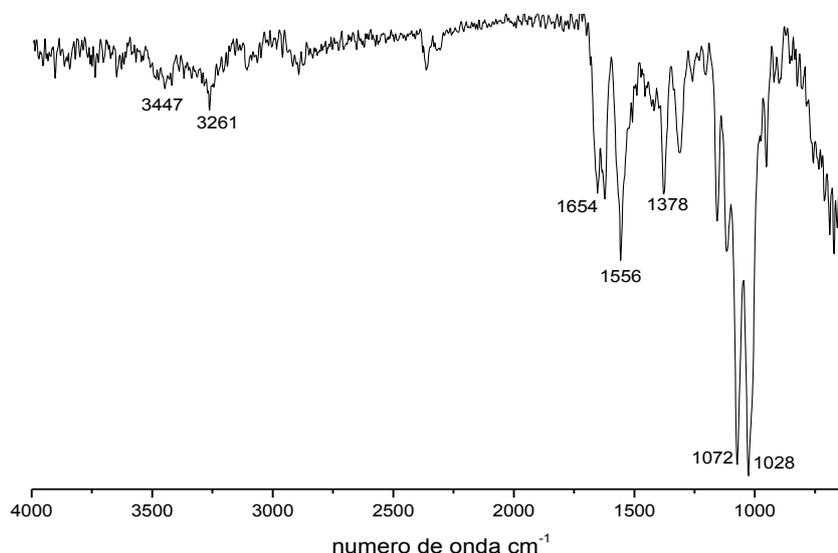
A espectroscopia no infravermelho é uma técnica experimental rápida que pode dar evidências de vários grupos funcionais no qual depende da interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética permitindo assim a identificação qualitativa de determinados grupos.

A faixa de radiação do infravermelho, no espectro eletromagnético, ocorre na faixa entre o visível e micro-ondas, sendo que a faixa de maior interesse se encontra na região de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  (SOLOMONS; FRYHLE, 2009).

Na espectroscopia por infravermelho, as principais bandas da amostra de quitina podem ser vistas na Figura 5. Os espectros da quitina possuem bandas características de absorção em 3447  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde a banda

de estiramento O-H e em  $3261\text{ cm}^{-1}$  atribuído à banda de estiramento N-H (WANG; ESKER, 2014).

Figura 5. Espectro vibracional obtido por ATR FTIR (*Attenuance Total Reflectance - Fourier Transformed Infrared*) na amostra de quitina



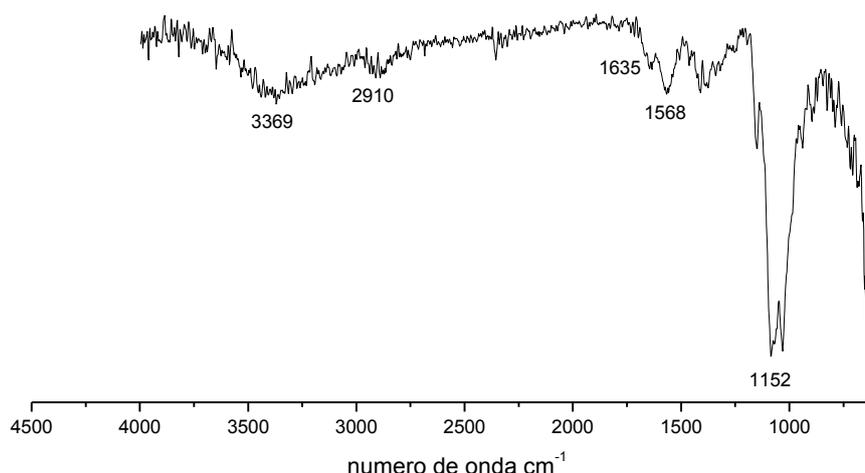
A banda em  $1654\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento da carbonila (C=O), onde se pode observar um *splitting* dessa banda. Esse *splitting* está correlacionado a uma ligação de hidrogênio da carbonila com um grupo hidroxila do carbono 6. O estabelecimento dessa ligação é típico de  $\alpha$ -quitina e, portanto o espectro vibracional indica que a estrutura adotada é da forma polimórfica  $\alpha$  (WU et al., 2015)

Destaca-se também a presença da banda de amida II N-H, referente a deformação no plano CONH, em  $1556\text{ cm}^{-1}$ . Esta banda está bem intensa no caso da quitina, e está diretamente ligada à presença do grupo acetil, contendo o nitrogênio amídico. As bandas em  $1378\text{ cm}^{-1}$  e em  $1072\text{ cm}^{-1}$  e  $1028\text{ cm}^{-1}$  são referentes ao estiramento C-CH<sub>3</sub>  $1378\text{ cm}^{-1}$ , envolvendo o carbono da acetila, o estiramento C-O-C do grupo hemiacetal cíclico e o estiramento CO (MUKHOPADHYAY et al., 2014).

Essas atribuições compõem as principais bandas observadas no espectro da quitina do krill Antártico e indicam claramente a presença de grupos funcionais que podem ser correlacionados à estrutura molecular da quitina (WANG et al., 2013).

Na Figura 6 encontra-se o espectro da quitosana obtida a partir da síntese de quitina. Atribui-se as bandas  $3369\text{ cm}^{-1}$  e  $2910\text{ cm}^{-1}$ , embora pouco evidenciado, aos grupos funcionais O-H, N-H e C-H, respectivamente.

Figura 6. Espectro vibracional obtido por ATR FTIR (*Attenuance Total Reflectance - Fourier Transformed Infrared*) na amostra de quitosana



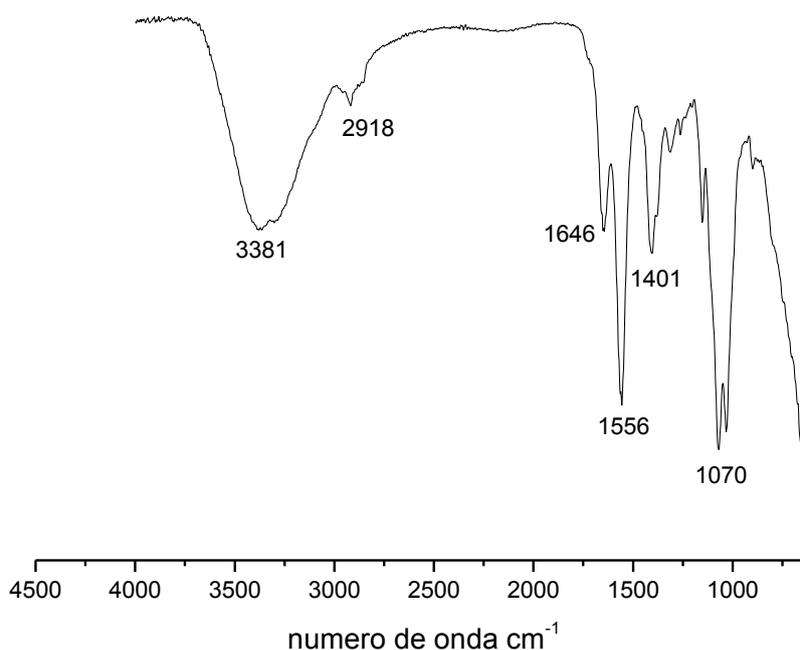
A comparação dos espectros da quitina e da quitosana apresenta alguns pontos interessantes. Nota-se que as bandas referentes à acetila diminuíram consideravelmente. A banda referente à amida II, por exemplo, em  $1568\text{ cm}^{-1}$ , está consideravelmente menor no espectro da quitosana. Esta diminuição de intensidade reflete a diferença estrutural das duas espécies, já que no processo de desacetilação o grupo acetila é removido, resultando em um grupamento amino. O desaparecimento completo da banda não ocorre, pois o processo de desacetilação não é quantitativo, restando alguns monômeros acetilados (HOOPER et al., 2015; MUKHOPADHYAY et al., 2014).

O mesmo raciocínio pode ser feito com as bandas em  $1635\text{ cm}^{-1}$  e  $1378\text{ cm}^{-1}$ , referentes à carbonila da amida e ao estiramento C-C do grupo acetil. No processo de desacetilação esses grupos também serão substituídos, e, portanto as intensidades de suas bandas diminuirão bastante (DIMZON; KNEPPER, 2015).

O perfil do espectro para as outras bandas são bem semelhantes, o que indica que o esqueleto monomérico é conservado e apenas o grupo acetil foi removido, o que é condizente com o que seria esperado para uma transformação de uma N-acetilglicosamina para uma glicosamina, as quais são os monômeros desses polímeros.

No espectro representado que Figura 7 apresenta, a banda em  $3381\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao grupo O-H. Esta banda é bem larga e é possível notar um pequeno ombro a direita dela, o que provavelmente é resultado de uma sobreposição das bandas O-H e N-H. A banda em  $2918\text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento C-H do metileno.

Figura 7. Espectro vibracional obtido por ATR FTIR (*Attenuance Total Reflectance - Fourier Transformed Infrared*) na amostra de succinil quitosana



É interessante salientar que na reação de succinilação é adicionado um grupo succinil a glicosamina, o qual restaura a amida originalmente presente na quitina e ainda adiciona um grupo carboxílico à estrutura. Dessa forma devem-se observar bandas análogas àquelas encontradas para a quitina, além de outras, exclusivas do grupo succinil (WANG et al., 2013).

A banda em  $1646\text{ cm}^{-1}$  pode ser então atribuída ao estiramento da carbonila da amida, a qual é restaurada. A banda em  $1556\text{ cm}^{-1}$  novamente bem intensa é referente à deformação no plano da acetila da ligação N-H, o aumento de intensidade, sendo, portanto, um bom indício da succinilação. Além disso, a banda em  $1401\text{ cm}^{-1}$ , relativamente intensa, pode ser atribuída ao estiramento do grupo carboxílico, evidenciando ainda mais a ocorrência da reação de succinilação da quitosana (BASHIR et al., 2016; MUKHOPADHYAY et al., 2014).

### 3.3.1. Cálculo do grau de desacetilação da quitosana

Para o cálculo do grau de desacetilação da quitosana, foi utilizada a Equação 3, vista anteriormente que corresponde:  $GD = 100 - [(A_{1655} / A_{3450}) \times 100 / 1,33]$ . O fator 1,33 corresponde a constante que representa a razão ( $A_{1655} / A_{3450}$ ) para quitinas completamente desacetiladas (DOMSZYA; ROBERTS, 1985; KASAAI, 2010).

O resultado obtido do grau de desacetilação da quitosana analisada pelo cálculo proposto por Domszy e Roberts (1985) foi de 77,0 %. Geralmente, as equações propostas utilizam os valores de absorbância das bandas em 1655 e  $3450\text{ cm}^{-1}$ , associadas à carbonila e à hidroxila, respectivamente. A primeira banda varia conforme o grau de desacetilação da quitina, diminuindo da quitina para quitosana, e a segunda está presente tanto no espectro da quitina quanto no da quitosana, e, portanto, não sofre alteração.

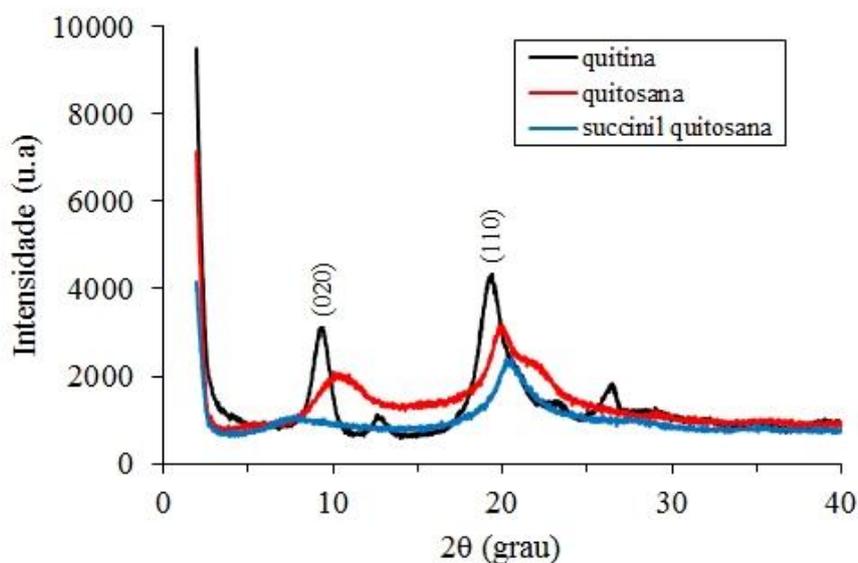
Sabe-se que o grau de desacetilação é influenciado por uma série de fatores como: condições de processo (temperatura, concentração de reagente, tempo, etc) (SIGNINI; CAMPANA FILHO, 2001), natureza do material, tipo de análise envolvida e metodologia de cálculo (KASAAI, 2008).

Wu et al. (2015) encontrou um grau de desacetilação de quitosana proveniente do krill Antártico, no valor de 96,96%. Também foi testada a quitosana comercial que apresentou grau de desacetilação de 74,0 %, valor este mais próximo do apresentado neste presente trabalho.

### 3.4. Difração de raios X (DRX)

A Figura 8 representa os difratogramas das amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana.

Figura 8. Difração de raios X das amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana.



A análise dos difratogramas mostra a presença de dois picos bem intensos. A atribuição desses picos é feita baseada na literatura e forneceu os planos 020 e 110, nos valores de  $2\theta$  de 9,36 e 19,34. O cálculo de espaçamento para esses dois planos foram feitos utilizando a Lei de Bragg e estão de acordo com o valor teórico esperado (WANG et al., 2013).

No caso da quitina, os picos estão bem definidos e intensos quando em comparação com a quitosana e seu derivado. Isso é um indicativo de que a cristalinidade desse precursor é maior que de seus derivados. A análise do difratograma da quitosana, por exemplo, apresenta o pico referente ao plano 020 menos intenso e deslocado para maiores valores de  $2\theta$ . Essas características foram relacionadas na literatura a uma diminuição do grau de acetilação, sendo essa diminuição proporcional à diminuição da intensidade do pico (KUMIRSKA; KACZY; BYCHOWSKA, 2010).

A comparação do difratograma da succinil quitosana em relação às duas estruturas anteriores mostra uma considerável diminuição do pico referente ao

plano 020. Esse é um bom indicativo de uma perda total do caráter cristalino da amostra (MUKHOPADHYAY et al., 2014).

Esse fato é esperado, já que a adição do grupo succinil à amina deve retirar densidade eletrônica do nitrogênio, e isso acaba por diminuir significativamente o número de ligações de hidrogênio da estrutura, pois o par de elétrons presentes no nitrogênio, envolvidos na ligação de hidrogênio, se tornará menos disponível, às quais são componentes importantes para a forma da estrutura cristalina desses polímeros (WANG et al., 2013).

Já em relação ao plano 110, nota-se que o valor de  $2\theta$  é relativamente constante para as três estruturas, todavia apresenta uma diminuição gradual de intensidade ao qual também pode se atribuir à diferença de cristalinidade dessas amostras.

### 3.5. Propriedades térmicas dos polímeros

As técnicas de análise térmica, como termogravimetria (TG), termogravimetria derivada (DTG) e análise térmica diferencial (DTA) são amplamente usadas para medir a estabilidade térmica e estudar o comportamento de polímeros no processo de pirólise em diferentes condições (ARORA et al., 2011).

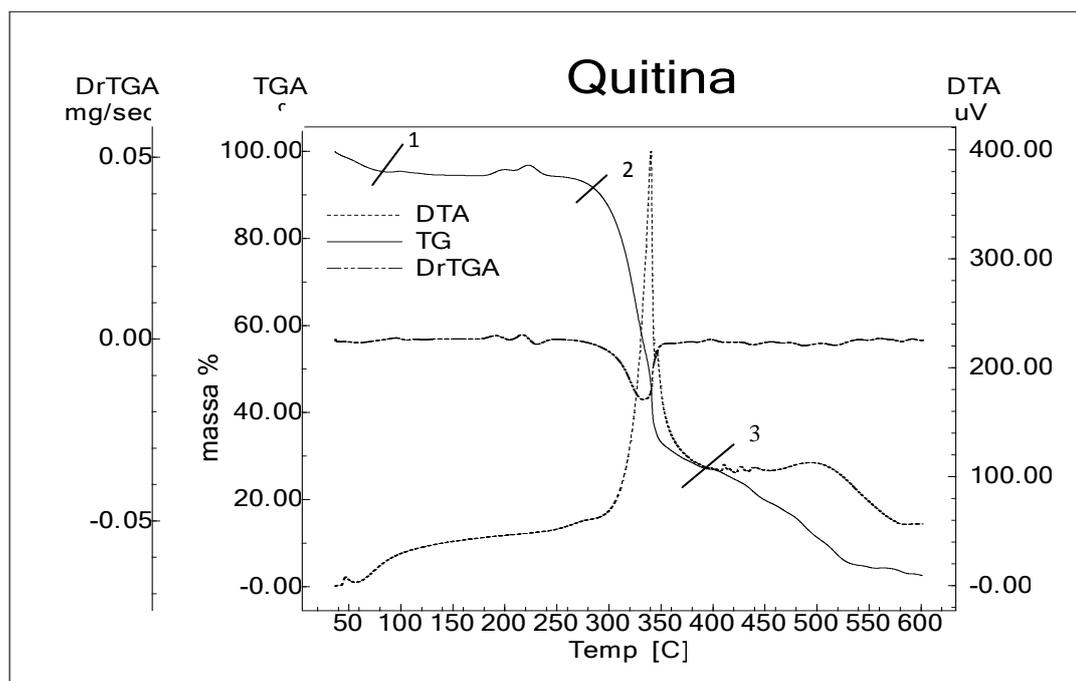
A termogravimetria é uma técnica muito utilizada na caracterização do perfil de degradação de polímeros e de outros materiais. A exposição à temperatura elevada pode, algumas vezes, alterar a estrutura química e, por consequência, as propriedades físicas dos materiais. Portanto, a curva de degradação térmica, em condições não isotérmicas, mostra o perfil da resistência ou estabilidade térmica que o material apresenta quando submetido a uma varredura de temperatura (SOLDI, 2002).

A termogravimetria tem, por sua vez, informações na curva DTG as quais são visualmente mais acessíveis, como a determinação rápida da temperatura  $T_{max}$ , em que a velocidade de perda de massa apresenta um máximo, além do que a área da curva de DTG é diretamente proporcional à perda de massa. Análises quantitativas pela medição da altura do pico separação e cálculo de variação de massa em reações sobrepostas são algumas das aplicações da curva de DTG (MOTHÉ; AZEVEDO, 2009).

### 3.5.1 Análises de TG, DTG e DTA dos polímeros

As curvas TG, DTG e DTA para quitina do krill Antártico quando realizadas em atmosfera de nitrogênio são apresentadas na Figura 9.

Figura 9. Curvas de TG, DTG e DTA da quitina do krill Antártico.

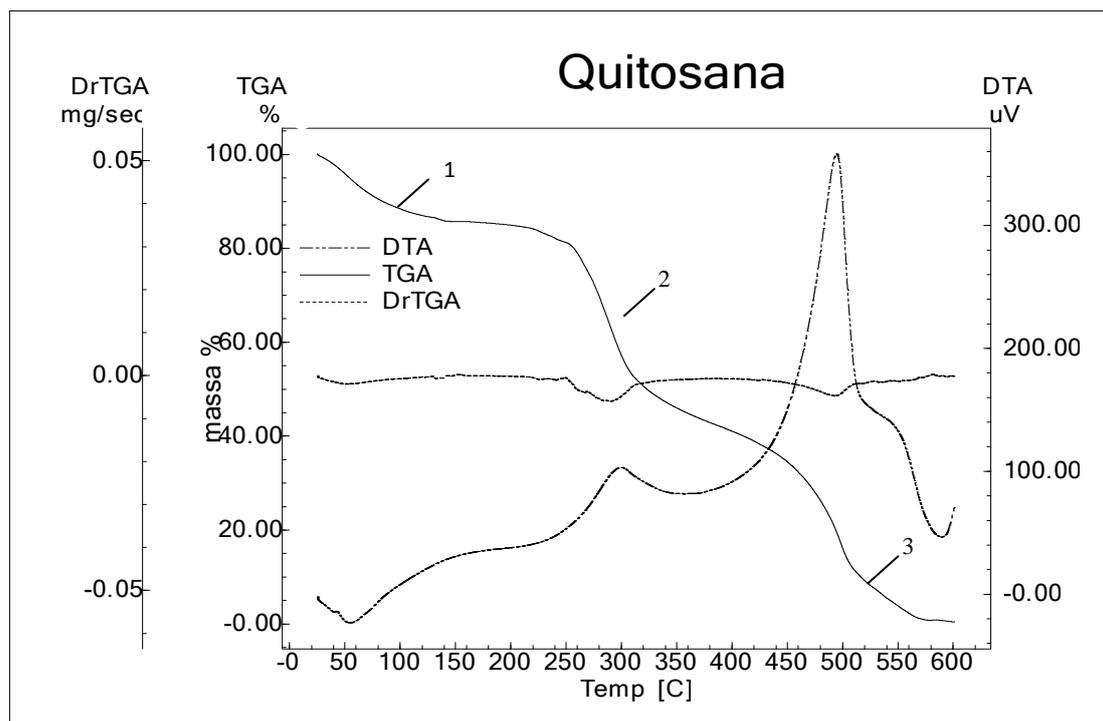


Na curva de TG é possível notar três eventos térmicos assinalados como 1°, 2° e 3°. O primeiro evento que ocorre no início da análise é atribuído à umidade residual ainda presente na estrutura da quitina (KAYA et al., 2014) na faixa de temperatura entre 60 e 103 °C. O segundo evento é atribuído ao início de degradação do material que inicia em 290 °C e termina em 348 °C, registrando 45,64 % de perda de massa, como mostra a curva DTG. Wang et al. (2013) atribui a este evento a degradação da estrutura molecular do polissacarídeo incluindo desidratação dos anéis de polissacarídeos e decomposição das unidades acetiladas e desacetiladas de quitina. No terceiro evento ocorre a perda de massa total da amostra até atingir a temperatura de 600 °C relativa à carbonização do material (ARORA et al., 2011).

Na curva de DTA observa-se um pico exotérmico no ponto máximo em 340 °C na faixa de temperatura entre 292 e 387 °C. Atribui-se a este ponto a decomposição térmica dos resíduos aminos e N-acetil.

Na Figura 10 encontra-se a curva de TG, DTG e DTA da quitosana do krill Antártico.

Figura 10. Curvas de TG, DTG e DTA da quitosana do krill Antártico.



Na curva de TG observa-se o primeiro evento que ocorre desde o início da análise até uma temperatura de 136 °C, o qual neste caso também se atribui à perda de água que se encontra adsorvida na estrutura da quitosana. Um ponto interessante à se destacar neste evento tanto a faixa de temperatura, como o a temperatura final do evento, são maiores em relação à quitina por conta do aumento da capacidade dos monômeros realizarem ligações de hidrogênio com as moléculas de água devido à substituição de um grupamento amida por um grupamento amina (SZYMAŃSKA; WINNICKA, 2015).

Com relação ao 2º e o 3º evento térmico da curva de TG, as temperaturas iniciais de 253 °C e 478 °C com perda de 41,46 % de massa e correspondem aos eventos de decomposição do material. Comparando este perfil, com o perfil da quitina, presume-se que, devido ao fato da quitina ser um

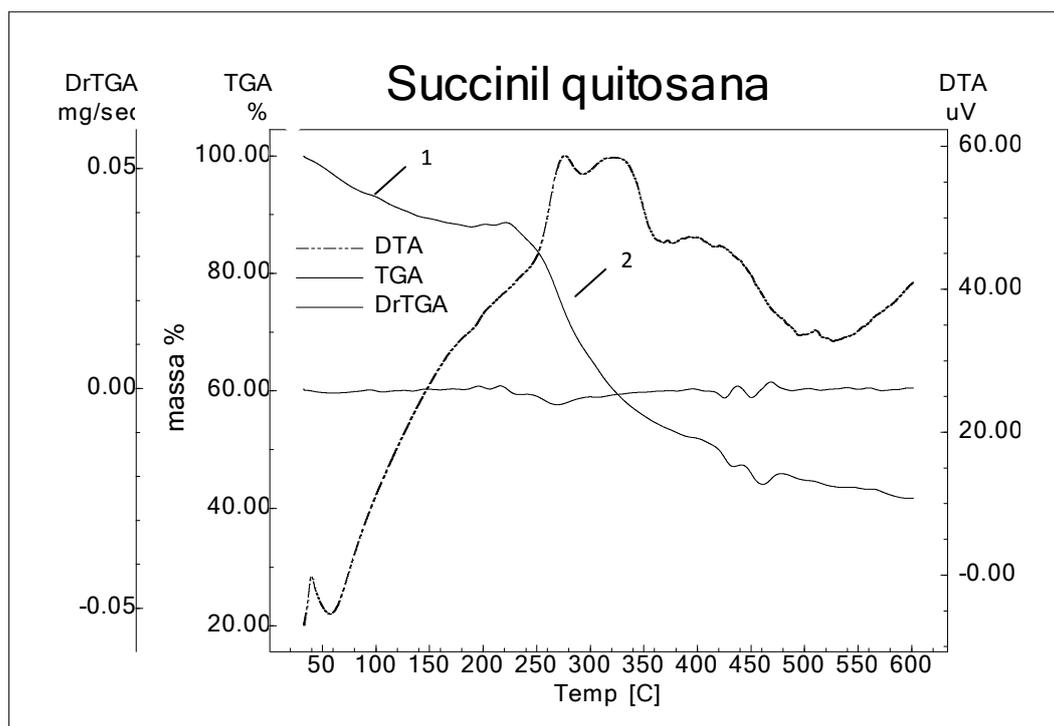
material mais rígido por conta da sua cristalinidade (comprovado pela análise de difração de raios X), a temperatura de degradação da quitina é maior em relação à da quitosana, ou seja, neste ponto fica claro que a quitosana é termicamente menos estável em relação à quitina (ARORA et al., 2011).

Estes valores são parâmetros importantes quando se fala em aplicação da quitosana na indústria alimentícia, pois grande parte dos processos ocorre em temperaturas altas como, por exemplo, a cocção de produtos panificados, que necessitam de altas temperaturas (180 – 250°C) para a produção de pães e bolos, em geral.

Na curva de DTA observam-se dois picos exotérmicos em 300 °C e 494 °C respectivamente. Pode-se inferir que nestas fases ocorre a despolimerização das unidades acetiladas e desacetiladas da quitosana, como no caso da quitina, só que agora neste caso, com um gasto de energia menor.

As curvas TG da succinil quitosana são mostradas na Figura 11.

Figura 11. Curvas de TG, DTG e DTA da amostra de succinil quitosana.



As curvas de TG e DTG comprovam que no primeiro evento a temperatura foi de 189 °C e a perda de massa de 13,12 %. Este aumento de temperatura no primeiro evento, em relação à quitina e à quitosana, pode ser

explicado da mesma maneira que ocorreu para a quitosana. A succinil quitosana tem uma capacidade muito alta de se ligar à água, e, portanto, as ligações de hidrogênio são muito mais intensas que favorecem o aumento da energia necessária para romper esta ligação.

A degradação da succinil quitosana inicia em 246 °C com perda de 33,78 % de massa neste evento. Ou seja, menor em relação à quitina e a quitosana, e menor também em relação à perda de massa. Wang et al (2013) apontam que as temperaturas nesta faixa onde ocorre a maior perda de massa é, sem dúvida, devido à disruptura da estrutura cristalina por conta da síntese de succinilação.

Na curva de DTA é interessante notar dois picos exotérmicos na faixa de 248 até 362 °C que correspondem à degradação e depolimerização dos anéis de polissacarídeos, bem como das unidades succiniladas. É possível observar neste ponto a necessidade de mais tempo para a degradação do material, em relação à quitosana e a quitina. Sugere-se que, por conta da inserção do grupamento succinil na estrutura da quitosana tenha ocorrido um aumento da massa molar do polímero, e que por conta disto há um gasto maior, não só de energia necessária para romper as ligações, mas como de maior tempo de degradação.

Na Tabela 2 encontram-se os valores de perda de massa e temperatura (°C) de acordo com os eventos térmicos atribuídos nas curvas de TG e DTA representadas nas Figuras 9, 10, e 11 para as amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana.

Tabela 2. Valores calculados a partir das curvas de TG, DTG e DTA para amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana com taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de nitrogênio

Amostras	T <sub>i</sub> (°C)	T <sub>max</sub> (°C) DTG	T <sub>max</sub> (°C) DTA	Faixa T <sub>pico</sub> (°C) DTA	Perda de massa (%)
Quitina	290	336	340	292 – 387	45,64
Quitosana	253	292	300	288 – 307	26,82
	*478	461	494	431 – 514	14,64
Succinil quitosana	246	271	276	248 – 291	33,78
			322	300 – 362	

T<sub>i</sub> = temperatura inicial do segundo evento térmico da curva de TG;

$T_{max}$  = temperatura máxima do pico de DTG e DTA, respectivamente.

\*Temperatura referente ao terceiro evento.

Os dados da Tabela 2 mostram claramente a relação entre os materiais, com relação às suas temperaturas registradas nas curvas de TG e DTA. Neste sentido, baseando-se nas temperaturas de  $T_i$ , a estabilidade térmica dos biopolímeros tem a seguinte ordem: quitina > quitosana > succinil quitosana.

Pode-se observar que a succinil quitosana começa a degradar em 246 °C. Esta temperatura está longe da temperatura em que os *muffins* serão cozidos (aproximadamente 180 °C) e que, portanto, a succinil quitosana é neste caso, suficientemente estável na faixa de temperatura desejada.

Como a succinil quitosana é o material de maior interesse neste trabalho, a investigação das suas propriedades térmicas é de extrema importância, uma vez que a succinil quitosana será empregada em formulações de produtos panificados, os quais passam por transformações térmicas para chegar ao produto final.

Portanto, esta análise garante que não ocorrerá grandes transformações (perda de massa significativa e degradação do polímero) na faixa de temperatura de cozimento desejada, garantindo que a succinil quitosana desempenhe seu papel na estrutura do produto durante e após a cocção.

### 3.5.2. Calorimetria diferencial exploratória - DSC

Essa técnica tem como objetivo medir as temperaturas e o fluxo de calor associado com as transições dos materiais em função da temperatura e do tempo. Tais medidas fornecem informações qualitativas e quantitativas sobre mudanças físicas e químicas que envolvem processos endotérmicos (absorção de calor), exotérmicos (liberação de calor), ou mudanças na capacidade calorífica (MOTHÉ; AZEVEDO, 2009).

O termo diferencial remete à utilização de um padrão para a realização da medida para avaliar a diferença entre este e a amostra sendo que os eventos analisados não ocorrem para o padrão na faixa de temperatura medida.

Os ensaios por DSC proporcionam dados sobre caracterização e medidas específicas, tais como: transição vítrea, temperatura e tempo de

cristalização, ponto de fusão, calor específico, ponto de ebulição e etc (MOTHÉ; AZEVEDO, 2009).

Os parâmetros encontrados na análise de DSC estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros da análise de DSC para as amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana em taxa de aquecimento de 20°C/min em atmosfera de nitrogênio

Amostras	Endotérmico			Exotérmico	
	$T_{\text{onset}}(^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{peak}}(^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{final}}(^{\circ}\text{C})$	$\Delta H_{\text{endo}}(\text{J/g})$	$T_{\text{peak}}(^{\circ}\text{C})$
Quitina	48	106	173	315	351
Quitosana	49	106	172	418	302
Succinil quitosana	37	108	159	440	285 – 352

Os valores descritos na Tabela 3 correspondem aos eventos endotérmicos e exotérmicos das amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana, em que a  $T_{\text{onset}}$  diminui conforme a succinilação da quitosana.

Correlacionando os valores obtidos da análise de DSC com os perfis estabelecidos nas análises de DTA e na caracterização do material pela análise de raios X, infere-se que há um gasto energético maior para romper o material, pois se trata de uma estrutura mais rígida devido à sua cristalinidade (EL-HEFIAN, 2010).

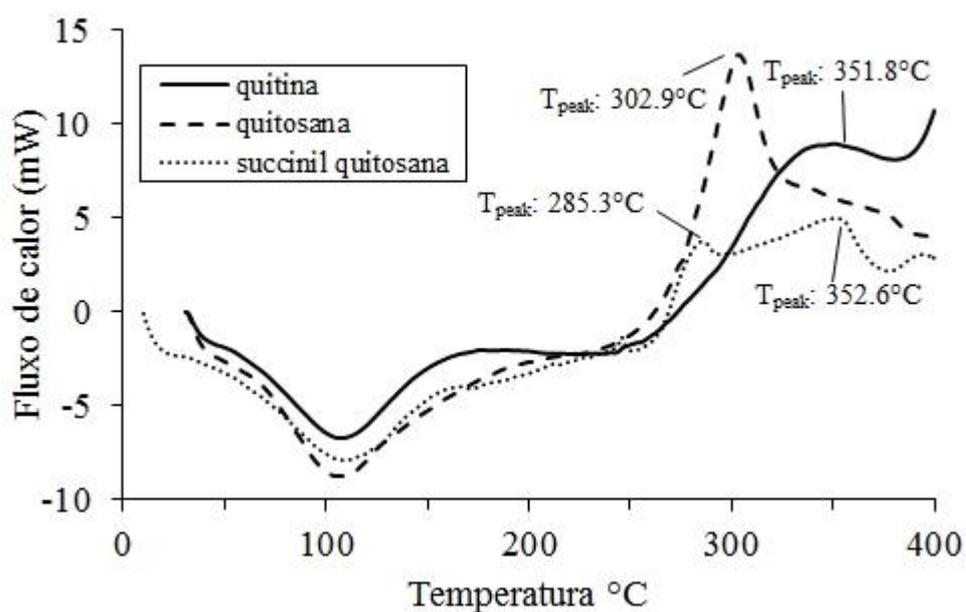
Além do que o aumento no valor da mudança de entalpia com a succinilação indica que há uma correlação definida entre a estrutura supramolecular do polímero e a capacidade de retenção de água. Como o processo de succinilação introduz obviamente grupos succinil à estrutura da quitosana, esta passa a se ligar com as moléculas de água devido à sua natureza hidrofílica e, portanto, aumentando os números de ligações de hidrogênio.

A análise térmica de DSC da quitina mostra duas curvas (Figura 12), uma endotérmica no intervalo de 48 a 173 °C com pico em 106 °C. Atribui-se ao perfil desta curva a evaporação da água adsorvida na estrutura da quitina. Entretanto, o pico exotérmico encontra-se no intervalo de 310 a 380 °C com  $T_{\text{peak}}$  em 351 °C em que corresponde à decomposição do polissacarídeo (BASHIR et al., 2016).

Na curva de DSC da quitosana observam-se também dois picos: um endotérmico em 49 até 172 °C referente às ligações de grupos hidrofílicos e um pico exotérmico mais acentuado em 302 °C devido à decomposição do material como visto anteriormente.

Por outro lado, a succinil quitosana apresentou um pico endotérmico mais acentuado entre 37 e 159 °C. Este evento representa a mudança da temperatura inicial ( $T_{\text{onset}}$ ) provavelmente por conta da diminuição do grau de polimerização durante a reação de succinilação em condição alcalina. Bashir et al (2015) sugere que a modificação da quitosana sob condição alcalina causa uma considerável despolimerização da cadeia polimérica devido à clivagem das ligações glicosídicas.

Figura 12. Curvas de DSC para as amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana sob atmosfera inerte (nitrogênio – vazão de gás 10 cc/min)



#### 4. CONCLUSÃO

Realizou-se um breve levantamento da quitosana e da succinil quitosana, frisando a importância significativa das propriedades e aplicações deste biopolímero.

Os testes de solubilidade em diferentes meios mostraram que a succinil quitosana é solúvel em todos os meios observados, confirmando a presença dos grupos succinatos na estrutura. O grau de substituição da SQ foi de 75 %.

Baseado nos estudos de espectroscopia na região do infravermelho foi possível realizar a atribuição de bandas dos espectros em relação aos grupos funcionais da quitina, quitosana e succinil quitosana. Também por meio desta técnica, encontrou-se o grau de desacetilação da quitosana, no valor de 77 %.

A técnica de difração de raios X forneceu respostas quanto à cristalinidade das amostras de quitina, quitosana e succinil quitosana, sendo possível observar um maior grau de cristalinidade na estrutura da quitina, e uma estrutura mais amorfa com relação à quitosana e à succinil quitosana, justamente por conta da substituição dos grupos amida pelos grupos amina na estrutura da quitosana.

As curvas das análises de TG/DTG/DTA e DSC propiciaram dados em relação à estabilidade térmica dos materiais, que por sua vez ajudam o entendimento do comportamento dos polímeros a fim de aplicá-los em produtos forneados. A quitina, como já esperado, obteve maior estabilidade em relação à quitosana e à succinil quitosana. Porém, a quitosana e a succinil quitosana mostraram boa estabilidade térmica quando submetidas a altas temperaturas.

Desta maneira, após a elucidação das propriedades dos materiais, pôde-se validar todas as sínteses ocorridas (desacetilação e succinilação) e avaliar as propriedades térmicas dos polímeros para a aplicação em *muffins*.

## REFERÊNCIAS

- ARORA, S. et al. Comparative degradation kinetic studies of three biopolymers: Chitin, chitosan and cellulose. **Archives of Applied Science Research**, v. 3, n. 3, p. 188–201, 2011.
- BASHIR, S. et al. N-succinyl chitosan preparation, characterization, properties and biomedical applications: a state of the art review. **Reviews in Chemical Engineering**, v. 31, p. 563–597, 2015.
- BASHIR, S. et al. Synthesis, characterization, properties of N-succinyl chitosan-g-poly (methacrylic acid) hydrogels and in vitro release of theophylline. **Polymer (United Kingdom)**, v. 92, p. 36–49, 2016.
- DE MELLO, K. G. P. C. Imobilização de pepsina em membranas liofilizadas de quitosana e Karine Gargioni Pereira Correa de Mello Imobilização de pepsina em membranas liofilizadas de quitosana e O-carboximetilquitosana Karine Gargioni Pereira Correa de Mello. p. 99, 2009.
- DIMZON, I. K. D.; KNEPPER, T. P. International Journal of Biological Macromolecules Degree of deacetylation of chitosan by infrared spectroscopy and partial least squares. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 939–945, 2015.
- DOMSZYA, J. G.; ROBERTS, G. A F. Evaluation of infrared spectroscopic techniques for analysing chitosan. **Makromol. Chem.**, v. 186, p. 1671–1677, 1985.
- DUAN, H. et al. Co-delivery of zinc and 5-aminosalicylic acid from alginate / N -succinyl- chitosan blend microspheres for synergistic therapy of colitis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 516, n. 1–2, p. 214–224, 2017.
- EL-HEFIAN, E. A. Characterization of chitosan in acetic acid : Rheological and thermal studies. **Turk J Chem**, v. 34, p. 47–56, 2010.
- GE, H. C.; LUO, D. K. Preparation of carboxymethyl chitosan in aqueous solution under microwave irradiation. **Carbohydrate Research**, v. 340, n. 7, p. 1351–1356, 2005.
- HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; REGENSTEIN, J. M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 40–50, 2016.
- HOOPER, L. et al. Reduction in saturated fat intake for cardiovascular disease. **The Cochrane database of systematic reviews**, v. 6, n. 6, p. CD011737, 2015.
- KAMOON, E. A. N-succinyl chitosan – dialdehyde starch hybrid hydrogels for biomedical applications. **Journal of Advanced Research**, v. 7, n. 1, p. 69–77,

2016.

KASAAI, M. R. A review of several reported procedures to determine the degree of N-acetylation for chitin and chitosan using infrared spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 4, p. 497–508, 2008.

KASAAI, M. R. Determination of the degree of N-acetylation for chitin and chitosan by various NMR spectroscopy techniques: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 801–810, 2010.

KATO, Y.; ONISHI, H.; MACHIDA, Y. Lactosaminated and intact N -succinyl-chitosans as drug carriers in liver metastasis. v. 226, p. 93–106, 2001.

KATO, Y.; ONISHI, H.; MACHIDA, Y. N -succinyl-chitosan as a drug carrier : water-insoluble and water-soluble conjugates. v. 25, n. 1, p. 907–915, 2004.

KAYA, M. et al. Extraction and Characterization of  $\alpha$ -Chitin and Chitosan from Six Different Aquatic Invertebrates. **Food Biophysics**, v. 9, n. 2, p. 145–157, 2014.

KUMIRSKA, J.; KACZY, Z.; BYCHOWSKA, A. Application of Spectroscopic Methods for Structural Analysis of Chitin and Chitosan. **Marine drugs**, v. 8, p. 1567–1636, 2010.

LAFARGA, T. et al. Chitosan-containing bread made using marine shellfishery byproducts: Functional, bioactive, and quality assessment of the end product. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 8790–8796, 2013.

MELLO, K. G. P. C. DE et al. Synthesis and Physicochemical Characterization Chemically Modified Chitosan by Succinic Anhydride. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 665–668, 2006.

MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. Análise térmica diferencial / calorimetria exploratória diferencial (DTA / DSC). In. **Análise térmica de materiais**. 1.ed. Artliber editor, 2009. cap.4, p. 125 – 243.

MOURYA, V. K.; INAMDAR, N. N. Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore. **Reactive and Functional Polymers**, v. 68, n. 6, p. 1013–1051, 2008.

MUKHOPADHYAY, P. et al. PH sensitive N-succinyl chitosan grafted polyacrylamide hydrogel for oral insulin delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 627–637, 2014.

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, p. 641–678, 2009.

SEONG, J. S.; YUN, M. E.; PARK, S. N. Surfactant-stable and pH-sensitive liposomes coated with N -succinyl- chitosan and chitooligosaccharide for

delivery of quercetin. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, n. August 2017, p. 659–667, 2018.

SIGNINI, R.; CAMPANA FILHO, S. P. Características e propriedades de quitosanas purificadas nas formas neutra, acetato e cloridrato. **Polímeros**, v. 11, n. 2, p. 58–64, 2001.

SKORIK, Y. A. et al. Synthesis of N -succinyl- and N -glutaryl-chitosan derivatives and their antioxidant , antiplatelet , and anticoagulant activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 166, p. 166–172, 2017a.

SKORIK, Y. A. et al. Development of drug delivery systems for taxanes using ionic gelation of carboxyacyl derivatives of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 162, p. 49–55, 2017b.

SOLDI, V. **Thermal degradation of natural polymers**. v. 67, p. 295–303, 2002.

SOLOMONS, T.W.G; FRYLE, C.B. **Química Orgânica**. 2 ed. Rio de Janeiro: LTC. 2005. 389p.

SZYMAŃSKA, E.; WINNICKA, K. Stability of chitosan-a challenge for pharmaceutical and biomedical applications. **Marine drugs**, v. 13, n. 4, p. 1819–46, 2015.

TENUTA-FILHO, A.; ALVARENGA, R. C. C. Reduction of the bioavailability of fluoride from Antarctic krill by calcium. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 50, p. 297–302, 1999.

WANG, C.; ESKER, A. R. Nanocrystalline chitin thin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, n. 1, p. 151–158, 2014.

WANG, Y. et al. Crystalline structure and thermal property characterization of chitin from Antarctic krill (*Euphausia superba*). **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 1, p. 90–97, 2013.

WU, S. et al. The efficient hemostatic effect of Antarctic krill chitosan is related to its hydration property. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 295–303, 2015.

ZHANG, C. et al. Distinctive polymer micelle designed for siRNA delivery and reversal of MDR1 gene-dependent multidrug resistance. 2016.



## CAPÍTULO 3

### **Uso de succinil quitosana como um substituto de gordura em formulações de bolos**

Este estudo foi realizado no Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), com a colaboração das pesquisadoras Cristina Molina Rosell e Raquel Garzón e publicado como artigo original no periódico LWT – Food Science and Technology (2018), v.96, p. 260 – 265.

#### **RESUMO**

Derivados de quitosana têm sido usados em produtos de panificação como fonte de fibra dietética para obter pães saudáveis, mas nenhuma outra aplicação foi sugerida. Esta pesquisa teve como foco explorar a capacidade de um derivado de quitosana (succinil quitosana, SC) como substituto de gordura em bolos. As suspensões SC foram utilizadas para substituir diferentes níveis de gordura (até ausência de gordura) e o efeito sobre a consistência das massas e características dos bolos (cor, propriedades morfogeométricas, textura, umidade e atividade de água) foram avaliados. Utilizaram-se suspensão de SC (2 g / 100 g) para substituir diferentes níveis de gordura em bolos. Com a adaptação das consistências da massa, foi possível obter massas com baixo teor de gordura com a mesma densidade e bolos com alta área 2D e menor razão (largura / altura) contendo metade da gordura presente no bolo controle. A estrutura do miolo e as características de textura dos bolos com gordura reduzida contendo SC foram semelhantes aos dos bolos integrais. Durante o endurecimento, o SC reduziu a taxa de endurecimento de bolos contendo metade de gordura, embora a taxa de secagem tenha acelerado. Os resultados indicaram que a succinil quitosana tem grande potencial para ser utilizada como substituto parcial de gordura em bolos, reduzindo inclusive a taxa de endurecimento durante o armazenamento.

**Palavras-chave:** Quitosana, substituto de gordura, bolo, massa, qualidade



## 1. INTRODUÇÃO

A sustentabilidade é uma das principais preocupações da indústria de alimentos, particularmente a pesca, devido à enorme quantidade de subprodutos gerados diariamente (MARTINS; PINHO; FERREIRA, 2017). Subprodutos marinhos da casca de camarão, krill, caranguejos e lagostas são ricos em quitina amino-polissacarídeo ( $\beta$  (1-4) 2-acetamido-2-desoxi- $\beta$ -d-glucopiranosose), o segundo mais abundante polímero na natureza após a celulose (ALISHAHI; AÏDER, 2012; WANG et al., 2013).

Como a celulose, a quitina é altamente insolúvel devido à sua extensa ligação de hidrogênio e alto grau de acetilação, por causa disso, geralmente é desacetilada para aumentar sua solubilidade levando à quitosana (2-acetamido-2-desoxi ligado a  $\beta$  (1-4)  $\beta$ -d-glucopiranosose e 2-amino-2-desoxi- $\beta$ -d-glucopiranosose) (BASHIR et al., 2016; PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009). Além disso, diferentes modificações químicas de seus grupos amino e hidroxila foram realizadas para melhorar a solubilidade da quitosana, como quaternização, alquilação, carboxialquilação e N-acilação (BASHIR et al., 2015; MUKHOPADHYAY et al., 2013).

Particularmente, a succinilação da quitosana aumenta a solubilidade em água e leva a um material biodegradável e não tóxico. A succinil quitosana tem sido relatada como hidrossolúvel em meios ácidos e alcalinos, alta retenção de água e capacidade quelante, forte atividade antioxidante, atividade inibitória da apoptose e assim por diante (BASHIR et al., 2015; MELLO et al., 2006). Por causa disso, a succinil quitosana tem sido amplamente utilizada em aplicações biomédicas.

A aplicação de derivados de quitosana em produtos de panificação tem se concentrado na exploração de suas propriedades promotoras de saúde como fibra alimentar com o objetivo de obter alimentos funcionais (KERCH; ZICANS; MERI, 2010). No entanto, Kerch et al. (2010) incorporaram succinato de oligossacarídeo de quitosana no pão e observou-se que os oligossacarídeos de quitosana (3,6 g / 110 g) impediram a complexação de amilose e lipídios, aceleraram a desidratação do glúten e do amido e aumentaram a taxa de

migração de água do miolo para crosta de pão; similarmente ao efeito observado com a quitosana (KERCH et al., 2008) assim eles não podem ser usados como agentes anti estáticos. No entanto, nenhuma exploração anterior de suas propriedades espessantes e emulsificantes foi relatada em produtos de panificação.

Os bolos são produtos de confeitaria complexos que requerem açúcar, gordura e gema de ovo para induzir frescor, sensação na boca e texturas palatáveis (KARP et al., 2017; MATOS; SANZ; ROSELL, 2014). Nas formulações de bolos, a gordura é usada para obter bolos com uma textura macia, baixa umidade e miolo amarelo.

A funcionalidade da gordura na massa de bolo é responsável por manter as células gasosas na emulsão (óleo-água) e o subsequente volume, suavidade e sabor dos bolos; além de gorduras, prolongar a vida útil do produto final (HESSO et al., 2015; MATSAKIDOU; BLEKAS; PARASKEVOPOULOU, 2010; RIOS et al., 2014).

Devido à consciência de reduzir o teor de gordura em produtos alimentícios e considerando que os produtos de padaria são consumidos diariamente por uma ampla gama de pessoas, algumas tentativas de substituir a gordura por diferentes tipos de ingredientes, ou seja, substitutos de gordura, têm sido relatadas (RODRIGUEZ et al., 2017).

O papel dos substitutos de gordura em matriz alimentícia, especialmente em bolos, tem sido atribuído às suas propriedades estruturantes (PSIMOULI; OREOPOULOU, 2013; RIOS et al., 2014). Polímeros como os hidrocolóides têm sido usados com a finalidade de melhorar as propriedades de manipulação da massa, a qualidade dos bolos frescos e estender o prazo de validade dos produtos armazenados (KUMARI et al., 2011; RODRIGUEZ et al., 2017).

Portanto, o objetivo desta pesquisa foi explorar a capacidade de um derivado de quitosana (succinil quitosana) como substituto de gordura em bolos. Anteriormente, a concentração de derivado de quitosana a ser incorporado como substituto de gordura foi determinada com base na sua

capacidade de emulsão (atividade e estabilidade). A concentração selecionada de succinil quitosana foi empregada para substituir diferentes níveis de gordura e o efeito da succinil quitosana foi avaliado tanto na massa quanto nos bolos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

Os materiais utilizados para a produção de *muffins* são: farinha trigo comercial (Harinera La Meta S.A, Lleida, Spain), ovo em pó (EPSA Aditivos Alimentaria Emilio Peña S.A, Valencia, Spain), óleo de girassol comercial, açúcar, leite em pó desnatado e fermento químico (bicarbonato de sódio e ácidos tartárico e málico).

### 2.2 Métodos

#### 2.2.1 Preparação da succinil quitosana e caracterização

A succinil quitosana (SQ) foi obtida a partir da reação de succinilação usando anidrido succínico conforme já descrito no Capítulo 2 deste presente trabalho (seção 2.3.2), bem como as caracterizações dos polímeros na seção 2.4.

#### 2.2.2 Propriedades emulsificantes

As propriedades emulsificantes foram realizadas com o objetivo de estabelecer qual concentração de succinil quitosana (por 100 g de farinha) seria utilizada nas formulações. Para tanto, as propriedades emulsificantes da farinha de trigo, e de misturas de succinil quitosana com farinha de trigo foram medidas de acordo com o método de Gujral e Rosell (2004) com algumas modificações. Misturas contendo succinil quitosana a 0,5 g/100 g, 1,0 g/100 g, 2,0 g/100 g e 3,0 g/100 g (base em farinha) foram testadas.

As emulsões foram preparadas com 2,0 mL de óleo de girassol refinado e 6 mL de suspensões de amostras (0,005:1 m/v) em 0,1 mol/L de tampão fosfato (pH 7,0), e então foram misturadas e homogeneizadas em homogeneizador T18 Ultra Turrax (Wilmington, NC, USA) a 2.300 rad/s por 1 min à 20 °C. Alíquotas (30 µL) da emulsão foram tomadas em intervalos regulares (10 min até 60 min) e diluídas com 3,0 mL de solução aquosa de dodecilssulfato de sódio (0.001:1, v/v). A absorvância (Abs) da emulsão diluída

foi determinada à 500 nm em espectrofotômetro. A atividade emulsificante medida foi determinada no tempo 0 min. O valor da média foi de três replicatas. A estabilidade da emulsão foi expressa de acordo com a Equação 1:

$$ES (\%) = (Abs_{60 \text{ min}}/Abs_{0 \text{ min}}) \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

### 2.2.3 Preparação da massa

As massas foram preparadas conforme descrito por Matos et al. (2014) com algumas modificações. As cinco formulações dos bolos com reduzido teor de gordura, e as quantidades utilizadas de cada ingrediente estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Ingredientes utilizados nas formulações de bolos com reduzido teor de gordura e adição de succinil quitosana

<sup>1</sup> Ingredientes (g)	0 % <sup>a</sup>	25 % <sup>b</sup>	50 % <sup>c</sup>	75 % <sup>d</sup>	100 % <sup>e</sup>
Farinha de trigo	300	300	300	300	300
Açúcar	214,4	214,4	214,4	214,4	214,4
Ovo em pó integral	32,1	32,1	32,1	32,1	32,1
Leite em pó desnatado	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8
Fermento químico	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4
<b>Óleo de girassol</b>	<b>171,3</b>	<b>128,5</b>	<b>85,65</b>	<b>42,8</b>	<b>0,0</b>
<b>Água</b>	<b>350,0</b>	<b>348,0</b>	<b>365,0</b>	<b>390,0</b>	<b>421,0</b>
Succinil quitosana	-	6,0	6,0	6,0	6,0
Água para suspensão da <sup>2</sup> SQ	-	171,3	171,3	171,3	171,3

<sup>1</sup>(base em farinha); <sup>2</sup>Succinil quitosana

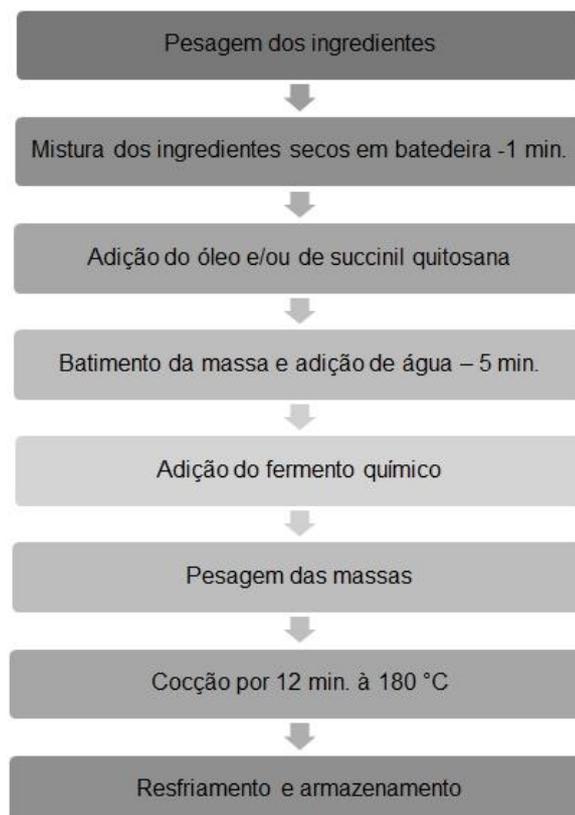
<sup>a</sup>Redução zero de óleo (formulação controle); <sup>b</sup>25 % redução de óleo; <sup>c</sup>50 % redução de óleo; <sup>d</sup>75 % redução de óleo; <sup>e</sup>100 % redução de óleo

As quantidades dos ingredientes sólidos foram mantidas constantes para todas as formulações dos bolos. A solução de succinil quitosana (2 g/100 g SQ,

base em farinha), foi utilizada como um substituto de gordura, reduzindo assim progressivamente a quantidade de óleo (base gordurosa) nas referentes formulações. Para garantir a mesma consistência da massa em todas as formulações, a quantidade de água adicionada foi ajustada com base na viscosidade da massa usando medidas de RVA.

Para a utilização da succinil quitosana nas formulações, foi necessário solubilizá-la previamente em água aquecida a uma temperatura de 60°C por 30 minutos. Ao ser adicionada na etapa de batimento, a solução de succinil quitosana encontrava-se na temperatura ambiente. O fluxograma da Figura 1 mostra de maneira simplificada o processo de produção das massas dos bolos para todas as formulações.

Figura 1. Fluxograma do processo de preparação dos bolos.



Em uma batedeira planetária RM8 mixer (Robot Coupe U.S.A., USA), todos os ingredientes secos, com exceção do fermento químico, foram pré-misturados por um minuto até a total homogeneização. Em seguida, o óleo de

girassol e/ou a succinil quitosana (dependendo da formulação) foram adicionados, iniciando-se o batimento. Durante este processo, a água foi gradualmente incorporada até se obter uma massa homogênea, e então finalmente o fermento químico foi adicionado, finalizando o batimento. O tempo total do processo foi de 5 minutos até a obtenção de uma massa esponjosa. Parte da massa (50 mL) foi utilizada para a análise de densidade e para a análise de RVA.

A massa preparada foi pesada (30 g) em forminhas de papel para *muffins* (45 mm x 27 mm) e assadas em forno estacionário com ventilação, modelo Labe (Salva Industrial SA, Gipuzkoa, Espanha) por 12 min a 180 °C. Os bolos foram resfriados à temperatura ambiente durante 90 minutos. Os bolos frescos foram acondicionados em sacos plásticos de polietileno de 15 cm x 30 cm e armazenados em câmara climatizada a 25 °C (Gabarro, Barcelona, Espanha) para os estudos. No total, foram realizadas duas bateladas por formulação em dias diferentes.

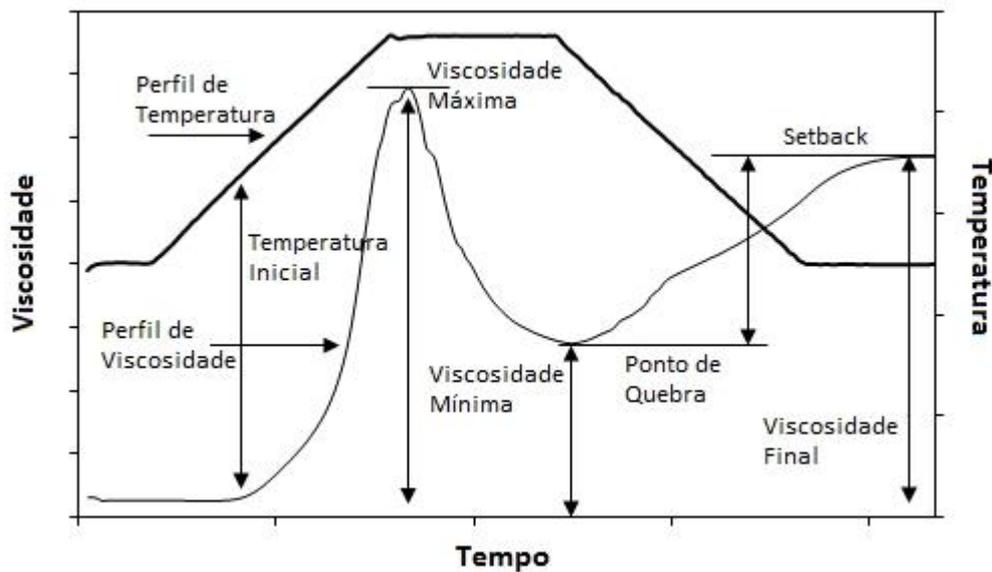
## 2.3 Caracterizações das massas dos bolos

### 2.3.1 *Rapid Visco Analyser* (RVA)

As propriedades de pasta e viscosidade da massa foram medidas usando um Rapid Visco <sup>TM</sup> (RVA 4500, Perten Instruments, Nova Gales do Sul, Austrália) como descrito por Xing, Niu, Su & Yang (2016). Oito gramas de massa foram diluídos em 12 g de água destilada dentro de um recipiente de alumínio e mantidos a 50 °C por 1 minuto, depois aquecidos de 50 a 95 °C a 12 °C/min e mantidos a 95 °C por 1 min. Depois disso, a massa foi arrefecida a 12 °C/min e mantida a 50 °C durante 2 min. A velocidade de mistura foi de 63 rad/s e a viscosidade foi monitorada (mPa.s) (XING et al., 2016). O experimento foi conduzido duas vezes por amostra e os dados foram registrados utilizando o software Thermocline for Windows (Perten Instruments, Hägersten, Suécia).

Os principais parâmetros para descrever as propriedades de empastamento são obtidos a partir da curva de RVA (Figura 2).

Figura 2. Curva típica da análise de RVA, em função da viscosidade, da temperatura e do tempo, mostrando os principais parâmetros usados para descrever as propriedades de pasta



Os termos utilizados são definidos da seguinte forma:

- Temperatura mínima (*Onset temperature*): temperatura em que o primeiro traço da viscosidade aumenta sobre a linha base durante a fase inicial de aquecimento;
- Viscosidade máxima (*Peak viscosity*): é o valor da viscosidade no ponto máximo da curva, durante o ciclo de aquecimento;
- Viscosidade mínima (*Trough*): é o menor valor da viscosidade após o pico, momento em que a temperatura se mantém constante;
- Ponto de quebra (*Breakdown*): é a diferença entre a viscosidade máxima (*peak viscosity*) e a viscosidade mínima (*trough*) e está relacionado à estabilidade da estrutura do amido.
- Viscosidade final (*Final viscosity*): viscosidade no final do teste;
- *Setback*: é a diferença entre a viscosidade final (*final viscosity*) e o menor valor da viscosidade após o pico (*trough*) e está relacionado à retrogradação da estrutura do amido;

### 2.3.2 Densidade

A densidade da massa foi medida como a razão do peso de um cilindro graduado completo com massa para o mesmo volume do cilindro preenchido com água. Três repetições foram determinadas.

## 2.4. Caracterizações dos muffins com reduzido teor de gordura contendo SQ

### 2.4.1 Análise de textura (*Texture Profile Analysis - TPA*)

A textura foi determinada em bolos frescos e armazenados nos dias 0, 2, 4 e 7 após o cozimento. A análise do perfil de textura do miolo do bolo foi feita com um texturômetro TA.XT.plus (Stable Microsystems, Godalming, UK) fornecido com o software especialista *Texture*. Os bolos foram cortados horizontalmente com uma seção de 1,5 cm de espessura. Um teste de compressão dupla (TPA) foi realizado com uma sonda cilíndrica plana de 75 mm de diâmetro (P/75) e compressão a 50 % da altura inicial a uma velocidade de 1 mm/s com tempo de espera de 5 s entre dois ciclos. Os parâmetros registrados incluíram: dureza, elasticidade, coesão, mastigabilidade e resiliência. Os resultados foram os valores médios de pelo menos quatro repetições para cada amostra.

### 2.4.2 Umidade e atividade de água

O teor de umidade foi determinado em bolos frescos e armazenados (nos dias 0, 2, 4 e 7 após o cozimento) seguindo método AACCI 44-15A.

A atividade de água foi medida em um Aqua Lab modelo 3T (Decagon Devices, Inc., USA) a partir do miolo dos bolos durante os dias 0, 2, 4 e 7 de armazenamento.

A taxa de endurecimento (g/dia) e a taxa de secagem (g/100g/dia), durante o armazenamento de 7 dias, foram calculadas usando o aumento da dureza e a diminuição do teor de umidade, respectivamente.

#### 2.4.3 Cor ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ )

A cor foi determinada no miolo dos bolos usando um espectrofotômetro Konica Minolta CM-3500. A iluminação (D65) com um ângulo de visão de  $10^\circ$  e tamanho de abertura de 30 mm foi usada. Os valores CIE- $L^*$   $a^*$   $b^*$  dos bolos foram registrados:  $L^*$  (luminosidade – claro / escuro),  $a^*$  (vermelho/verde) e  $b^*$  (amarelo/azul). As medições foram feitas em três regiões diferentes na superfície dos miolos previamente cortados da parte central.

#### 2.4.4 Análises morfogeométricas dos bolos

Os bolos frescos foram cortados de modo longitudinal e transversal. Imagens de alta resolução (600 dpi) dos bolos foram capturadas pelo HP Scanjet G3110 (Hewlett-Packard, EUA). Um único campo quadrado de 30 x 30 mm foi cortado e analisado pelo software Fiji Image J (SCHINDELIN et al., 2012) para cada imagem. Os canais de cor foram separados para melhorar as diferenças entre as células e o miolo, o algoritmo “otsu” pré-definido foi aplicado para estabelecer o limiar e depois as partículas foram analisadas. Os parâmetros estudados foram área celular média ( $\text{mm}^2$ ), densidade celular ou número de células por  $\text{cm}^2$  (célula /  $\text{cm}^2$ ), porosidade superficial (calculada como área total celular / área de seção transversal, expressa em porcentagem) e circularidade celular de 0 (quadrado) a 1 (círculo perfeito). Para o estudo de todas as características morfogeométricas dos bolos, largura e altura, a área 2D ( $\text{mm}^2$ ), o perímetro 2D (mm) e a razão (largura / altura) de cada fatia foram calculados usando o mesmo software.

## 2.5. Análise estatística

Para avaliar a diferença significativa entre as amostras, foi realizada uma análise ANOVA unidirecional das amostras utilizando o programa Statgraphics Centurion XVI Version 16.2.04. O teste de *Fisher's least* (LSD) foi usado para comparar médias com 95% de confiança.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Propriedades emulsificantes

O uso da quitosana e de seus derivados como agentes emulsificantes e estabilizantes em emulsões tanto do tipo óleo em água (o / w) como do tipo água em óleo (w / o), além de sistemas multifásicos vem sendo bastante estudado e discutido ao longo do tempo. Sabe-se atualmente que fatores como grau de desacetilação, massa molar e concentração da quitosana, bem como os métodos de emulsificação, a concentração de seus componentes e a natureza dos surfactantes alteram o seu comportamento nestes tipos de sistemas coloidais (KLINKESORN, 2013; LASAREVA; CHERNUCHINA; GABRIELIAN, 2018; MUN; DECKER; MCCLEMENTS, 2006).

Neste presente estudo, o efeito de diferentes concentrações de succinil quitosana sobre a atividade emulsificante (AE) e estabilidade emulsificante (EE) está resumido na Tabela 2.

Tabela 2. Propriedades emulsificantes de misturas de succinil quitosana e farinha de trigo

Amostras	AE (UA)	EE (%)
Farinha de trigo	0,12 ± 0,05	37,8 ± 1,4
SQ 0,5%	0,51 ± 0,13	20,3 ± 5,0
SQ 1,0%	0,56 ± 0,05	46,4 ± 5,6
SQ 2,0%	0,80 ± 0,01	62,6 ± 6,7
SQ 3,0%	0,60 ± 0,02	39,5 ± 2,8

AE = atividade emulsificante; EE = estabilidade emulsificante;

SQ = succinil quitosana. UA = unidades de absorvância (nm).

Valores dados como média ( $n = 3$ ) ± desvio padrão.

Fonte: Rios et al (2018).

Como esperado, a atividade emulsificante (AE) das misturas aumentou à medida que a concentração de SQ também aumentava, atingindo um máximo na concentração de 2,0 % (2 g SQ/100 g de farinha). A estabilidade emulsificante (EE) também aumentou na presença de SQ, mas apenas na faixa entre 1 - 2 g/100 g de concentração.

No entanto, na concentração de 3,0 % (3 g SQ/100 g farinha) tanto a atividade quanto a estabilidade diminuíram. Na literatura, tem sido relatado que a funcionalidade de outros biopolímeros muda ao aumentar a concentração devido a processos de separação de fases, como foi observado com amido de arroz e hidrocolóides iônicos (ROSELL; YOKOYAMA; SHOEMAKER, 2011).

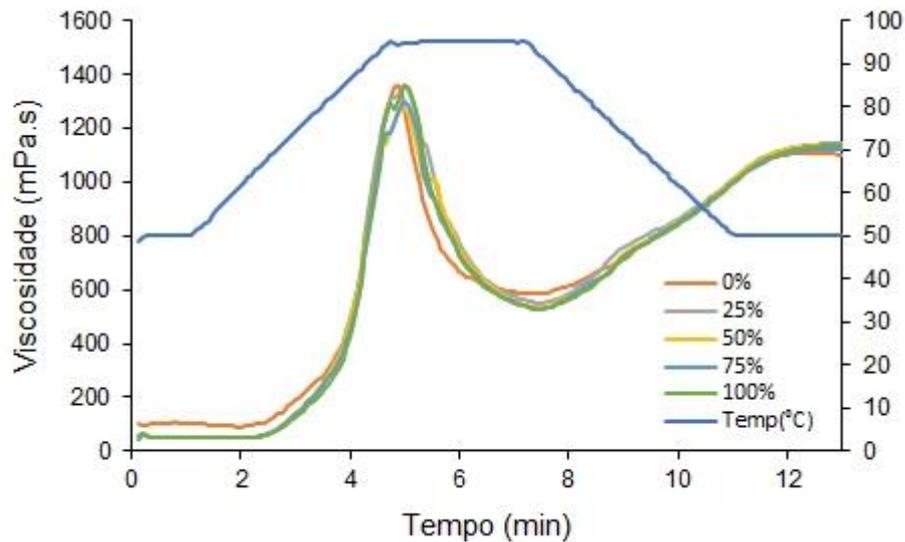
Presume-se então que apenas 2 g / 100 g SC são necessários para diminuir a tensão superficial e manter a emulsão estável por um longo período. Portanto, as propriedades emulsificantes sugeriram o uso de 2 g SQ/100 g de farinha em solução (meio aquoso) o mais adequado para estabilizar sistemas bifásicos.

### 3.2. Comportamento de pasta e densidade das massas de bolos contendo SQ

A adição de 2 g SQ/100 g de farinha foi usada para obter massas com reduzido teor de gordura. Com esse propósito, foram preparadas massas com diferentes níveis de óleo de girassol para determinar a quantidade de gordura que a SQ foi capaz de substituir. Ao mesmo tempo, a hidratação foi adaptada individualmente para cada massa para manter uma consistência constante ao diminuir os níveis de gordura, porque já se sabe que a consistência excessiva da massa pode limitar sua expansão (GULARTE et al., 2012).

As viscosidades das massas foram comparadas durante um ciclo de aquecimento-resfriamento e os parâmetros de pasta foram determinados e apresentados na Tabela 3 e ilustrados na Figura 3. Sabe-se bem que as gorduras afetam as propriedades do amido durante a gelatinização e a retrogradação, principalmente devido à formação de complexos amilose-lipídios, o qual produz um aumento no parâmetro *breakdown* (GUJRAL; ROSELL, 2004; ROSELL; YOKOYAMA; SHOEMAKER, 2011).

Figura 3. Perfil da viscosidade de pasta das massas de bolos com níveis reduzidos de gordura contendo succinil quitosana.



Nesse sentido, as massas contendo diferentes percentuais de redução de gordura (25, 50, 75 e 100%) apresentaram diferenças significativas no parâmetro *breakdown* resultante das massas, em relação à massa controle com teor de gordura total (redução de 0%). Porém não foram observadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) na temperatura inicial (*onset temperature*), viscosidade máxima, viscosidade mínima, viscosidade final e *setback*. Em relação ao ponto de quebra, observou-se uma diminuição significativa até 50% de redução da gordura, mas além desse nível foi detectado um aumento progressivo deste parâmetro como mostra a Tabela 3.

Tabela 3. Efeitos da succinil quitosana nas propriedades de pasta e densidade das massas de bolos obtidas com diferentes níveis de redução de gordura

Amostras	Temperatura inicial (°C)	Viscosidade máxima (mPa.s)	Viscosidade mínima (mPa.s)	Ponto de quebra (mPa.s)	Viscosidade final (mPa.s)	Setback (mPa.s)	Densidade (g/mL)
0 % <sup>a</sup>	65,7 ± 0,4	1363 ± 165	580 ± 40	858 ± 110 <sup>c</sup>	1103 ± 64	548 ± 4	1,10 ± 0,10
25 % <sup>b</sup>	65,8 ± 0,7	1301 ± 41	529 ± 11	758 ± 22 <sup>ab</sup>	1124 ± 21	595 ± 19	1,00 ± 0,03
50 % <sup>c</sup>	65,7 ± 0,4	1282 ± 26	532 ± 18	749 ± 34 <sup>a</sup>	1138 ± 28	608 ± 23	0,98 ± 0,03
75 % <sup>d</sup>	65,9 ± 0,8	1365 ± 91	549 ± 63	816 ± 38 <sup>bc</sup>	1141 ± 101	592 ± 46	1,06 ± 0,10
100 % <sup>e</sup>	65,5 ± 0,4	1358 ± 64	526 ± 30	832 ± 46 <sup>c</sup>	1135 ± 62	609 ± 36	0,93 ± 0,07
<i>P</i> -valor	0,8852	0,3262	0,4736	<b>0,0204</b>	0,893	0,1432	0,2902

Os valores são dados como média ± desvio padrão ( $n = 4$ ),

Letras iguais em uma mesma coluna não possuem diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) para cada parâmetro específico.

Fonte: Rios et al (2018, p. 263).

<sup>a</sup>redução zero de óleo (formulação controle); <sup>b</sup>25 % redução de óleo; <sup>c</sup>50 % redução de óleo; <sup>d</sup>75 % redução de óleo; <sup>e</sup>100 % redução de óleo

As gorduras aumentam o ponto de quebra devido à estabilidade do amido durante o cozimento, portanto, era esperado que uma diminuição no teor de gordura induzisse um declínio nesse parâmetro. No entanto, parece que com maior redução de gordura (> 50%), uma forte interação entre a estrutura da SQ e as moléculas de amido foi produzida estabilizando a integridade do grânulo de amido durante o aquecimento, como foi descrito para hidrocolóides iônicos como a goma xantana (DIAO et al., 2017; ROSELL; YOKOYAMA; SHOEMAKER, 2011).

De qualquer forma, as interações de amido com hidrocolóides durante a gelatinização levam a diferentes estruturas de rede, cujas propriedades de pasta e reológicas dependem do hidrocolóide e de sua concentração (DIAO et al., 2017; SHI; BEMILLER, 2002). Sabe-se que a emulsão contendo quitosana depende da massa molar, de sua concentração e do grau de desacetilação, contribuindo para o aumento da viscosidade (KERCH et al., 2008; KLINKESORN, 2013). Portanto, a succinil quitosana com grau de desacetilação de 77% apresentou um comportamento como hidrocolóides iônicos.

A densidade de massa foi avaliada (Tabela 3) e nenhuma alteração foi observada devido à redução de gordura na presença de succinil quitosana. Valores de densidade semelhantes indicaram quantidade comparável de ar incorporado na massa, que foi atribuída ao ajuste de consistência anteriormente realizado.

Por outro lado, Psimouli e Oreopoulou (2013) relataram que a adição de compostos à base de carboidratos (maltodextrina, oligofrutose, pectina, inulina e concentrado de proteína de soro microparticulado) para substituir 35, 65 ou 100% de gordura na massa de bolo aumentou significativamente a densidade de massa e diminuiu a viscosidade, provavelmente devido à diferente estrutura e formulações do substituto de gordura. No entanto, em contraste com o presente estudo, esses autores não ajustaram o teor de água das receitas para garantir a mesma viscosidade da massa.

### **3.3 Propriedades físicas dos bolos**

#### *3.3.1. Efeitos da redução de gordura nas características morfogeométricas*

Como se pode observar na Tabela 4, a redução gradativa dos níveis de gordura nos bolos confere diferenças marcantes em suas características morfogeométricas, particularmente significantes na área 2D e na razão largura/altura. A Figura 4 ilustra o corte transversal dos bolos em que suas variações na área 2D, perímetro e a razão variam conforme as distintas formulações.

De um modo geral, a redução da gordura proporcionou bolos com volume alto (área 2D alta), embora a redução de 75 % de gordura não tenha mostrado diferença significativa ( $P > 0.05$ ). Contrário a este estudo, pães com adição de quitosana nem apresentaram uma diminuição no volume (LAFARGA et al., 2013), nem efeitos significativos foram observados (KERCH; ZICANS; MERI, 2010) dependendo do derivado de quitosana. Portanto, os resultados sugerem uma funcionalidade própria da succinil quitosana como um substituto de gordura em bolos, mas não como um melhorador em pães.

O efeito positivo da succinil quitosana também foi observado quanto à razão largura/altura, como mostra a Tabela 4 e a Figura 4, porém somente com os bolos reduzidos até 50 % de gordura.

Apesar do perfil da viscosidade das massas encontrado durante o ciclo de aquecimento (Tabela 3), algumas mudanças significativas foram observadas no formato e no volume dos bolos, sugerindo que a succinil quitosana afetou a incorporação de bolhas gasosas na massa, e também a habilidade da estrutura de se expandir durante o cozimento.

A estrutura interna dos bolos foi avaliada pela análise digital de imagem e seus valores estão reportados na Tabela 4. Os resultados confirmaram que nenhum efeito significativo foi observado tanto na densidade da célula e área média da célula quanto na porosidade da superfície quando os níveis de gordura foram reduzidos nas formulações dos bolos. Como esperado, a

---

consistência da massa constante garante a mesma incorporação de ar na massa, obtendo assim bolos com densidade e tamanho celular similar.

Somente um efeito significativo foi observado na circularidade das células gasosas internas em que a diminuição de até 50 % de redução de gordura produziu células gasosas arredondadas. Este resultado está em acordo com as propriedades de pasta observadas na Tabela 3, suportando que a SQ contribuiu com a integridade dos grânulos de amido e da estabilidade dos mesmos durante o cozimento quando a redução da gordura foi obtida, que poderia favorecer a expansão em células mais uniformes.

As propriedades da succinil quitosana contribuem para o desempenho das características porosas (KLINKESORN, 2013; RODRÍGUEZ; ALBERTENGO; AGULLÓ, 2002). No entanto, nota-se que um excesso de água nas formulações com altas reduções de gordura (75 % e 100 %) foram produzidas interações limitadas entre o amido e a SQ devido à diluição do amido ou uma competição das moléculas de água com a SQ para interagir com o amido.

Tabela 4. Efeitos da redução de gordura nas propriedades morfogeométricas e na cor de bolos contendo succinil quitosana.

Amostras	Características morfogeométricas			Cor		
	Área 2D (cm <sup>2</sup> )	Perímetro 2D (cm)	Razão (largura/altura)	L*	a*	b*
0 % <sup>a</sup>	13,83 ± 1,54 <sup>a</sup>	30,07 ± 5,78	1,31 ± 0,07 <sup>b</sup>	61,40 ± 3,53 <sup>a</sup>	-2,65 ± 0,23 <sup>ab</sup>	19,95 ± 3,26
25 % <sup>b</sup>	17,56 ± 0,54 <sup>bc</sup>	30,05 ± 2,18	1,09 ± 0,03 <sup>a</sup>	68,65 ± 2,52 <sup>c</sup>	-2,51 ± 0,25 <sup>b</sup>	20,73 ± 0,71
50 % <sup>c</sup>	19,05 ± 1,19 <sup>c</sup>	29,35 ± 2,93	1,02 ± 0,04 <sup>a</sup>	65,18 ± 2,98 <sup>b</sup>	-2,42 ± 0,29 <sup>bc</sup>	19,98 ± 1,34
75 % <sup>d</sup>	14,51 ± 1,62 <sup>ab</sup>	30,40 ± 10,41	1,32 ± 0,14 <sup>b</sup>	64,05 ± 2,08 <sup>b</sup>	-2,28 ± 0,16 <sup>c</sup>	21,25 ± 1,37
100 % <sup>e</sup>	18,35 ± 4,85 <sup>c</sup>	24,18 ± 2,46	1,29 ± 0,10 <sup>b</sup>	64,81 ± 2,32 <sup>b</sup>	-2,72 ± 0,30 <sup>a</sup>	21,26 ± 0,93
<i>P</i> -valor	<b>0,0272</b>	0,4587	<b>0,0004</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0009</b>	0,3680
Amostras	Densidade da célula (cel./cm <sup>2</sup> )	Área média da célula (mm <sup>2</sup> )	Porosidade da superfície (%)		Circularidade	
0 % <sup>a</sup>	9,58 ± 1,40	1,78 ± 0,20	16,78 ± 1,21		0,63 ± 0,04 <sup>a</sup>	
25 % <sup>b</sup>	7,33 ± 1,58	2,25 ± 0,70	15,65 ± 1,76		0,70 ± 0,02 <sup>b</sup>	
50 % <sup>c</sup>	9,47 ± 1,36	1,87 ± 0,50	17,18 ± 2,28		0,71 ± 0,02 <sup>b</sup>	
75 % <sup>d</sup>	8,75 ± 0,62	2,13 ± 0,17	18,61 ± 1,82		0,66 ± 0,04 <sup>ab</sup>	
100 % <sup>e</sup>	8,06 ± 0,86	2,01 ± 0,07	16,14 ± 1,15		0,62 ± 0,04 <sup>a</sup>	
<i>P</i> -valor	0,2164	0,5767	0,2644		<b>0,0115</b>	

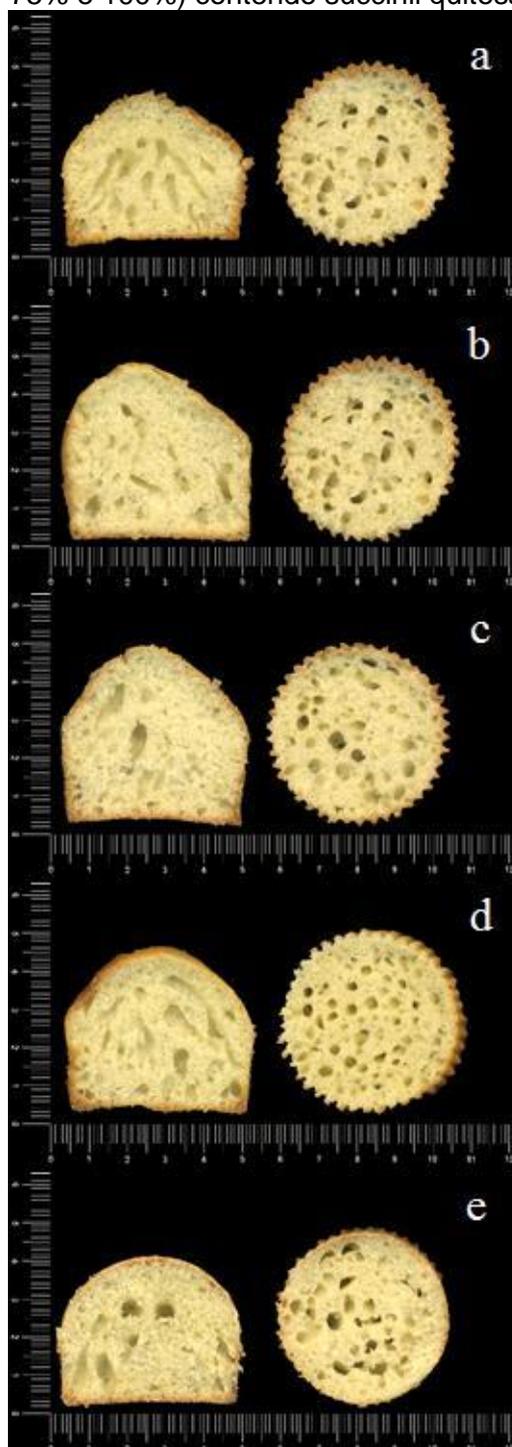
Os valores são dados como média ± desvio padrão ( $n = 4$ );

Letras iguais em uma mesma coluna não possuem diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) para cada parâmetro específico.

<sup>a</sup>Redução zero de óleo (formulação controle); <sup>b</sup>25 % redução de óleo; <sup>c</sup>50 % redução de óleo; <sup>d</sup>75 % redução de óleo; <sup>e</sup>100 % redução de óleo

Fonte: Rios et al (2018, p. 263).

Figura 4. Imagens capturadas dos cortes longitudinal e transversal dos *muffins* com diferentes níveis de redução da gordura (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) contendo succinil quitosana



Fonte: Rios et al (2018).

Com relação aos parâmetros de cor dos miolos dos *muffins*, os efeitos da adição de succinil quitosana nas formulações estão apresentados na Tabela 4. A adição de succinil quitosana modificou significativamente ( $P < 0,05$ ) a luminosidade ( $L^*$ ) proporcionando bolos com miolos mais claros em relação ao controle (61,40), partindo de 68,65 para concentrações altas de óleo na formulação até 64,81 para àquela com substituição total da gordura por SQ (100 %).

Em relação à tonalidade avermelhada ( $a^*$ ) do miolo dos bolos, embora tenham apresentados resultados ligeiramente variados, a diminuição de gordura e a presença de SQ diminuiu significativamente este parâmetro. Já a formulação com total diminuição da gordura (2,72) não apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) da amostra controle (2,65), e conseqüentemente nenhuma tendência foi observada com o nível de redução da gordura. Já a coordenada  $b^*$  não apresentou modificações significativas entre as amostras de *muffins* podendo variar entre 19,95 para formulação com a presença total da gordura (controle) até 21,26 para aquela com adição de SQ e redução total de gordura.

Lafarga et al. (2013) avaliaram os parâmetros de cor em miolos de pães contendo 1 % de quitosana e observaram valores semelhantes com relação às coordenadas  $a^*$  e  $b^*$  aos apresentados neste trabalho, e observaram uma coloração mais clara ( $L^*$ ) em pães sem quitosana, o que contrapõe com os miolos de bolos contendo SQ.

#### *3.4. Efeitos da redução de gordura na umidade e na atividade de água dos muffins contendo SQ*

Em paralelo à redução de gordura, um aumento no conteúdo de água foi feito para manter a consistência das massas. Conseqüentemente, a umidade apresentou um aumento progressivo com a redução de gordura de acordo com os resultados mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. Influência da SQ em *muffins* com diferentes níveis de redução de gordura na umidade e na atividade de água

Amostras	Umidade (g/100 g)	Atividade de água
0 % <sup>a</sup>	32,28 ± 0,96 <sup>a</sup>	0,931 ± 0,012 <sup>bc</sup>
25 % <sup>b</sup>	32,69 ± 0,52 <sup>a</sup>	0,925 ± 0,004 <sup>b</sup>
50 % <sup>c</sup>	35,13 ± 0,80 <sup>b</sup>	0,911 ± 0,011 <sup>a</sup>
75 % <sup>d</sup>	37,07 ± 1,85 <sup>b</sup>	0,938 ± 0,009 <sup>cd</sup>
100 % <sup>e</sup>	40,81 ± 3,72 <sup>c</sup>	0,943 ± 0,005 <sup>d</sup>
<b>P-valor</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>

Os valores são dados como média ± desvio padrão ( $n = 4$ ).

Letras iguais em uma mesma coluna não possuem diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) para cada parâmetro específico.

<sup>a</sup>Redução zero de óleo (formulação controle); <sup>b</sup>25 % redução de óleo; <sup>c</sup>50 % redução de óleo; <sup>d</sup>75 % redução de óleo; <sup>e</sup>100 % redução de óleo.

Adaptado de Rios et al (2018).

A presença de SQ nos *muffins* não modificou o conteúdo de água livre disponível nos miolos, assim como foi descrito quando 2 g/100g de quitosana foi adicionado em bolos (KERCH et al., 2008). De fato, a redução de 25 % de gorduras, que duramente requer uma mudança na quantidade de água (348 ml vs 350 ml no controle), levou à uma umidade similar àquele obtido na formulação controle (0%).

No entanto, mudanças significativas foram observadas na atividade de água ( $a_w$ ) (Tabela 5). Um declínio na  $a_w$  foi observado nos *muffins* preparados com redução de gordura acima de 50 %, possivelmente pela capacidade da SQ de se ligar à água (LAFARGA et al., 2013). Porém, a redução máxima de gordura (100%) resultou em *muffins* com maior  $a_w$  em comparação ao controle.

### 3.5. Efeitos da redução de gordura nos parâmetros de textura (TPA)

Quando o nível de gordura foi reduzido nos *muffins* contendo SQ, mudanças significativas foram observadas nos parâmetros de textura relacionados, com exceção da elasticidade (Tabela 6). A redução completa de gordura na formulação dos *muffins* (100 %) resultou em um bolo mais macio e nenhuma mudança foi observada com a diminuição de outros níveis, quando comparado ao bolo controle.

Estudos anteriores elaborados com pães mostraram que a adição de quitosana aumentou a dureza do miolo do pão, e no caso de oligossacarídeos de quitosana, o efeito dependeu da massa molar dos biopolímeros (KERCH; ZICANS; MERI, 2010). Considerando os parâmetros de coesividade e resiliência, a redução progressiva da gordura induziu um aumento constante destes parâmetros que são indicativos da estrutura do alimento com grande habilidade de se recuperar após a compressão (ESTELLER; ZANCANARO JÚNIOR; LANNES, 2006; MATOS; SANZ; ROSELL, 2014).

Normalmente, estas características têm sido associadas à miolos com um grande número de células gasosas, porém levando-se em conta que a porosidade foi similar em todos os *muffins*, o resultado obtido pode ser atribuído ao papel plastificante das moléculas de água nos bolos frescos. De fato, durante o armazenamento dos *muffins*, quando uma desidratação significativa foi observada, a textura comportou-se significativamente diferente.

A taxa de endurecimento dos *muffins* diminuiu com a redução de gordura até 50 %. Acima desta porcentagem (75% e 100%), uma tendência oposta foi observada. Portanto, a succinil quitosana foi capaz de atuar como um agente antienvelhecimento em formulações com até 50 % de gordura.

O uso da quitosana e seus derivados vêm sendo estudado unicamente em formulações de pães que são bem distintos. Nos pães, a quitosana é adsorvida na superfície do amido, evitando a complexação amilose-lipídeo e acelerando o envelhecimento do pão (KERCH et al., 2008; RAKCEJEVA et al., 2011) e aumentando o endurecimento do miolo (LAFARGA et al., 2013).

Com base nisso, os resultados atuais podem ser atribuídos à sua sinergia com a porção lipídica da formulação, uma vez que a SQ poderia atuar como um surfactante anfifílico (grupos hidrofílico e hidrofóbico) (BASHIR et al., 2015) capaz de se ligar às gorduras, além de proteínas e polissacarídeos presentes na formulação de bolos.

Além disso, os resultados sobre a taxa de secagem (Tabela 6) durante o tempo de armazenamento mostraram valores mais elevados em bolos com

---

gordura reduzida, com exceção do bolo sem gordura (redução de 100%). A taxa de secagem diminuiu ao aumentar o nível de redução de gordura, assim a presença de SQ acelerou a liberação de moléculas de água.

Parece que a interação da SQ com a estrutura gordurosa acelerou a secagem durante o armazenamento, o que foi parcialmente compensado com o aumento da água para o ajuste da consistência da massa. Mas na ausência de gordura, SQ reduz a secagem, provavelmente devido à quitosana retardar a redistribuição de água entre os componentes do pão (glúten e amido) embora ao mesmo tempo acelere a desidratação do glúten e do amido e a migração da água do miolo à crosta (KERCH et al., 2008; RAKCEJEVA et al., 2011).

Tabela 6. Efeitos da redução de gordura na textura e nas taxas de endurecimento e secagem dos bolos contendo succinil quitosana

Amostras	Dureza (N)	Elasticidade	Coesividade	Mastigabilidade (g)	Resiliência	Taxa de endurecimento (N/dia)	Taxa de secagem (g/100 g por dia)
0 %	130 ± 10 <sup>b</sup>	0,981 ± 0,012	0,724 ± 0,013 <sup>a</sup>	922 ± 71 <sup>a</sup>	0,307 ± 0,009 <sup>a</sup>	27,8	3,85
25 %	132 ± 7 <sup>b</sup>	0,993 ± 0,015	0,758 ± 0,010 <sup>b</sup>	1029 ± 72 <sup>a</sup>	0,308 ± 0,009 <sup>a</sup>	26,1	5,64
50 %	130 ± 10 <sup>b</sup>	1,009 ± 0,051	0,759 ± 0,026 <sup>b</sup>	985 ± 37 <sup>a</sup>	0,303 ± 0,015 <sup>a</sup>	14,0	5,00
75 %	129 ± 11 <sup>b</sup>	1,007 ± 0,037	0,798 ± 0,017 <sup>c</sup>	1186 ± 90 <sup>b</sup>	0,332 ± 0,020 <sup>b</sup>	35,4	4,00
100 %	111 ± 4 <sup>a</sup>	0,997 ± 0,012	0,862 ± 0,031 <sup>d</sup>	960 ± 23 <sup>a</sup>	0,432 ± 0,022 <sup>c</sup>	49,2	3,46
<i>P</i> -valor	<b>0,0003</b>	<b>0,0697</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0095</b>	<b>0,0000</b>	-	-

Os valores são dados como média ± desvio padrão ( $n = 4$ ).

Letras iguais em uma mesma coluna não possuem diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) para cada parâmetro específico.

<sup>a</sup>Redução zero de óleo (formulação controle); <sup>b</sup>25 % redução de óleo; <sup>c</sup>50 % redução de óleo; <sup>d</sup>75 % redução de óleo; <sup>e</sup>100 % redução de óleo.

Fonte: Rios et al (2018).

#### 4. CONCLUSÃO

A succinil quitosana, um biopolímero solúvel em água, aumentou a capacidade emulsificante da farinha de trigo e esse efeito foi máximo quando 2 g SC/100 g de farinha foram misturados com farinha.

Em consequência, a capacidade da SQ como substituto de gordura foi verificada em um produto de panificação com alto teor de gordura, como os bolos. As massas, de consistência comparável, foram obtidas com diferentes níveis reduzidos de teor de gordura (0-100 %) na presença de 2 g SQ/100 g de farinha.

Ao produzir bolos reduzidos de gordura, a SQ (2 g/100 g) foi capaz de substituir até 50 % do conteúdo de gordura dos bolos, sem alterar as propriedades de pasta da massa, apenas o ponto de quebra. A estrutura do miolo dos bolos com gordura reduzida contendo SQ foi semelhante à dos bolos com gordura (0 %, controle), sendo que a SQ melhorou a circularidade das células.

Em relação às propriedades de textura, o efeito da SQ foi prontamente evidente durante o armazenamento dos bolos, reduzindo a taxa de endurecimento, embora a taxa de secagem tenha sido acelerada. Neste caso, a succinil quitosana pode ser considerada um potencial substituto de gordura para a formulação de bolos, sendo verificada sua capacidade emulsificante.

## REFERÊNCIAS

AACCI Approved Methods. (2000). Approved methods (11th ed.). St Paul: **American Association of Cereal Chemists International** (2000).

ALISHAHI, A.; AİDER, M. Applications of Chitosan in the Seafood Industry and Aquaculture: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 817–830, 2012.

BASHIR, S. et al. N-succinyl chitosan preparation, characterization, properties and biomedical applications: a state of the art review. **Reviews in Chemical Engineering**, v. 31, p. 563–597, 2015.

BASHIR, S. et al. Synthesis, characterization, properties of N-succinyl chitosan-g-poly (methacrylic acid) hydrogels and in vitro release of theophylline. **Polymer (United Kingdom)**, v. 92, p. 36–49, 2016.

DIAO, Y. et al. Effect of interactions between starch and chitosan on waxy maize starch physicochemical and digestion properties. **CyTA - Journal of Food**, v. 6337, p. 1–9, 2017.

ESTELLER, M. S.; ZANCANARO JÚNIOR, O.; LANNES, S. C. D. S. “Chocolate” cake made with cupuaçu and kefir powder. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 447–454, 2006.

GUJRAL, H. S.; ROSELL, C. M. Modification of pasting properties of wheat starch by cyclodextrin glycosyltransferase. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, p. 1685–1690, 2004.

GULARTE, M. A. et al. Effect of different fibers on batter and gluten-free layer cake properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 48, p. 209–214, 2012.

HESSO, N. et al. Formulation effect study on batter and cake microstructure: Correlation with rheology and texture. **Food Structure**, v. 5, p. 31–41, 2015.

KARP, S. et al. Original article Combined use of cocoa dietary fibre and steviol glycosides in low-calorie muffins production characteristic porous structure and spongy texture. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 944–953, 2017.

KERCH, G. et al. Effect of chitosan on physical and chemical processes during bread baking and staling. **European Food Research and Technology**, v. 226, p. 1459–1464, 2008.

KERCH, G.; ZICANS, J.; MERI, R. M. The effect of chitosan oligosaccharides on bread staling. **Journal of Cereal Science**, v. 52, n. 3, p. 491–495, 2010.

KLINKESORN, U. The role of chitosan in emulsion formation and stabilization. **Food Reviews International**, v. 29, p. 371–393, 2013.

KUMARI, R. et al. Use of vegetable oils, emulsifiers and hydrocolloids on rheological, fatty acid profile and quality characteristics of pound cake. **Journal of Texture Studies**, v. 42, n. 5, p. 377–386, 2011.

LAFARGA, T. et al. Chitosan-containing bread made using marine shellfishery byproducts: Functional, bioactive, and quality assessment of the end product. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 8790–8796, 2013.

LASAREVA, E. V.; CHERNUCHINA, A. I.; GABRIELIAN, G. A. Preparation , surface activity and colloidal properties of the ionic complex of chitosan with hexadecyl-oligo-oxyethylene hemisuccinate. **Carbohydrate Polymers**, v. 183, n. August 2016, p. 123–130, 2018.

MARTINS, Z. E.; PINHO, O.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Food industry by-products used as functional ingredients of bakery products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 67, p. 106–128, 2017.

MATOS, M. E.; SANZ, T.; ROSELL, C. M. Establishing the function of proteins on the rheological and quality properties of rice based gluten free muffins. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 150–158, 2014.

MATSAKIDOU, A.; BLEKAS, G.; PARASKEVOPOULOU, A. Aroma and physical characteristics of cakes prepared by replacing margarine with extra virgin olive oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 949–957, 2010.

MELLO, K. G. P. C. DE et al. Synthesis and Physicochemical Characterization Chemically Modified Chitosan by Succinic Anhydride. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 665–668, 2006.

MUKHOPADHYAY, P. et al. Formulation of pH-responsive carboxymethyl chitosan and alginate beads for the oral delivery of insulin. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 129, n. 2, p. 835–845, 2013.

MUN, S.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Effect of molecular weight and degree of deacetylation of chitosan on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by surfactant-chitosan membranes. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 296, n. 2, p. 581–590, 2006.

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, p. 641–678, 2009.

PSIMOULI, V.; OREOPOULOU, V. The effect of fat replacers on batter and cake properties. **Journal of Food Science**, v. 78, p. 1495–1502, 2013.

RAKCEJEVA, T. et al. Effect of chitosan and chitooligosaccharide lactate on free lipids and reducing sugars content and on wheat bread firming. **European Food Research and Technology**, v. 232, p. 123–128, 2011.

RIOS, R. V. et al. Application of fats in some foods products. **Food Science**

**and Technology**, v. 34, p. 3–15, 2014.

RIOS, R. V. et al. Use of succinyl chitosan as fat replacer on cake formulations. **Lwt**, v. 96, n. May, p. 260–265, 2018.

RODRIGUEZ, E. et al. Effect of modified cassava starch as a fat replacer on the texture and quality characteristics of muffins. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. DOI: 10.10, n. 0, p. 0, 2017.

RODRÍGUEZ, M. S.; ALBERTENGO, L. A.; AGULLÓ, E. Emulsification capacity of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, n. 3, p. 271–276, 2002.

ROSELL, C. M.; YOKOYAMA, W.; SHOEMAKER, C. Rheology of different hydrocolloids-rice starch blends. Effect of successive heating-cooling cycles. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 373–382, 2011.

SCHINDELIN, J. et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. **Nature methods**, v. 9, p. 676–82, 2012.

SHI, X.; BEMILLER, J. N. Effects of food gums on viscosities of starch suspensions during pasting. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, p. 7–18, 2002.

WANG, Y. et al. Crystalline structure and thermal property characterization of chitin from Antarctic krill (*Euphausia superba*). **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 1, p. 90–97, 2013.

XING, L. et al. Effect of egg freshness on texture and baking characteristics of batter systems formulated using egg, flour and sugar. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 6, p. 2047–2054, 2016.



## CAPÍTULO 4

### Composição físico-química e avaliação sensorial de *muffins* contendo succinil quitosana

#### RESUMO

A succinil quitosana (SQ) foi aplicada em *muffins* como um substituto de gordura a fim de minimizar a quantidade de gordura originalmente encontrada nas formulações padrões. Para tanto, objetivou-se a avaliação de seus componentes nutricionais, bem como de suas características sensoriais (textura, sabor e aspecto geral) como a aceitabilidade dos consumidores foram determinados. Os ingredientes utilizados para todas as cinco formulações foram: farinha de trigo, açúcar, leite pó desnatado, fermento químico e água mineral. A variação de óleo de girassol e água se deu da seguinte forma, respectivamente: FR 0 %: 171,3 g e 350 g; FR 25 %: 128,5 g e 348 g; FR 50 %: 85,65 g e 365 g; FR 75 %: 42,8 g e 390 g; FR 100 %: 0 e 421 g. Com exceção da formulação controle (FR 0 %), manteve-se constante a quantidade de SQ (2 g/ 100 g farinha de trigo) em todas as outras amostras. Umidade, cinzas, lipídeos, proteínas, carboidratos e valor energético foram quantificados em todas as formulações. A análise sensorial foi executada por um painel de 100 provadores (não treinados), em que foram servidas as amostras FR 0 %, FR 25 %, FR 50 % e FR 75 % e avaliadas quanto à aceitabilidade por escala hedônica (de 9 pontos) e intenção de compra (escala de 1 a 5). Os resultados de umidade (de  $23,03 \pm 0,06$  a  $38,95 \pm 0,78$ ) e conseqüentemente de lipídeos ( $19,10 \pm 0,12$  -  $1,40 \pm 0,15$ ) variaram significativamente ( $P < 0,05$ ) à medida que a gordura era retirada. O uso da SQ pouco afetou os teores de cinzas, proteínas e carboidratos. As respostas sensoriais mostraram que *muffins* com até 50 % menos gordura e presença de SQ boa aceitabilidade (pontos variando entre 6 e 7) dos atributos sensoriais em relação ao controle ( $P > 0,05$ ), e a amostra com 75 % redução em gordura atribui-se pontos mais baixos, principalmente no aspecto de sabor ( $5,96 \pm 1,71$ ). Um pouco mais de 30 % dos provadores provavelmente comprariam os *muffins* contendo SQ e até 50 % menos gorduras. Portanto, os *muffins* produzidos com SQ e baixos níveis de gordura (até 50 %) mostraram ótimos perfis de seus componentes nutricionais, bem como das respostas sensoriais, promovendo produtos mais saudáveis que atendam às necessidades dos consumidores.

**Palavras-chave:** succinil quitosana, bolo, gordura, análise sensorial, rotulagem.



## 1. INTRODUÇÃO

Cada vez mais pessoas buscam consumir alimentos saudáveis, de menor valor energético, preferencialmente com menores teores de açúcares, gorduras, sal, e até de componentes que naturalmente fazem parte do próprio alimento como o glúten da farinha de trigo e a lactose do leite (PSIMOULI; OREOPOULOU, 2013; ROMAGNY; GINON; SALLES, 2017).

Os produtos de panificação, por exemplo, os quais são consumidos em todo o mundo, são vistos como alimentos de alto valor energético, e por isso constantes pesquisas são encontradas na literatura no que tange a redução de açúcar e gordura nestes produtos, bem como a redução do glúten (BERTOLIN et al., 2013; MANCEBO; RODRIGUEZ; GÓMEZ, 2016; MANISHA; SOUMYA; INDRANI, 2012).

Os bolos *muffins* tem seu formato diferenciado dos bolos convencionais pois são produtos de consumo individual, em uma única porção, assados em formas de papel, contendo em sua formulação quantidades consideradas de açúcar (quando doce) e gordura (óleos vegetais ou manteiga), assim como em grande parte das formulações de bolos, levando a um produto de alto valor calórico, sob o ponto de vista nutricional (JARPA-PARRA et al., 2017; MARTÍNEZ-CERVERA; SALVADOR; SANZ, 2014).

De fato, reduzir ou eliminar um ingrediente como a gordura por exemplo, exige certos conhecimentos, pois a mesma possui funções tecnológicas muito importantes como a capacidade de reter bolhas gasosas promovendo volume alto e maciez aos *muffins*, contribuem na emulsificação da massa, além de proporcionar sabor e aumentar a vida de prateleira desses produtos (RIOS et

al., 2014; WILDERJANS; BRIJS; DELCOUR, 2008; ZHOU; FAUBION; WALKER, 2011).

O uso de substitutos de gordura tem sido largamente estudado em produtos de panificação em geral, porém bolos contendo alto teor de gordura são produtos alvos em pesquisas (CAPRILES et al., 2008; RIOS et al., 2018; RODRIGUEZ et al., 2017; ZHOU; FAUBION; WALKER, 2011). Substitutos de gordura com base em carboidratos (RODRÍGUEZ-GARCÍA et al., 2013b), proteínas (RONDA et al., 2011) e lipídeos fazem parte de um leque de novos ingredientes, no entanto o emprego de hidrocolóides vem sendo estudo ao longo do tempo, promovendo com sucesso a manutenção da qualidade em bolos quando aplicados (KUMARI et al., 2011; MCCLEMENTS; DEMETRIADES, 1998; RIOS et al., 2018).

Para garantir a qualidade frente à substituição da gordura nesses produtos, os métodos de avaliação da qualidade, não só de pães e bolos, mas de qualquer produto como um todo, que sofre alguma alteração em sua composição, é de extrema importância, uma vez que manter os parâmetros de qualidade garante produtos padronizáveis e reprodutíveis, proporcionando valor agregado e satisfação aos consumidores.

Para tanto, a caracterização dos *muffins* tanto do ponto de vista nutricional quanto do ponto de vista sensorial é essencial para a elucidação de suas características, tais como valor nutricional, aspectos físicos como sabor, cor, aparência e textura, contribuindo assim para a escolha e aceitabilidade de quem irá consumi-lo (KUMARI et al., 2011; RODRIGUEZ et al., 2017; SOZER et al., 2011; URETA; OLIVERA; SALVADORI, 2013).

O Regulamento Técnico de Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, Resolução RDC n. 360 de 23 de Dezembro de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão responsável por fiscalizar a produção e a comercialização dos alimentos, além de normatizar a rotulagem, torna obrigatória a Rotulagem Nutricional de Alimentos e Bebidas Embalados, uma vez que as indústrias fabricantes devem declarar no rótulo a informação nutricional do valor energético, carboidratos, proteínas, gorduras totais,

gorduras saturadas, gorduras *trans*, fibra alimentar e sódio (ANVISA, 2003). No entanto, informações referentes ao conteúdo de colesterol, ferro e cálcio são apenas incentivadas pela ANVISA aos fabricantes de alimentos e bebidas somente com o intuito de

*“aumentar o nível de conhecimento do consumidor, desde que o produto apresente quantidade igual ou superior a 5 % da Ingestão Diária Recomendada (IDR)”.*

Também faz parte do conjunto de normas vigente sobre rotulagem nutricional, a Resolução RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012 (ANVISA, 2012), que aprova o regulamento técnico MERCOSUL sobre Informação Nutricional Complementar (INC) empregada nos rótulos de alimentos embalados na ausência do consumidor. Esta resolução tem como definição:

*“Informação Nutricional Complementar (Declarações de Propriedades Nutricionais): é qualquer representação que afirme, sugira ou implique que um alimento possui propriedades nutricionais particulares, especialmente, mas não somente, em relação ao seu valor energético e/ou ao seu conteúdo de proteínas, gorduras, carboidratos e fibra alimentar, assim como ao seu conteúdo de vitaminas e minerais”.*

Nesta norma se menciona todos os critérios e condições para a utilização da INC, bem como os termos autorizados que são aqueles como “baixo”, “não contém”, “fonte”, “sem adição”, entre outros que são comumente inseridos nos rótulos de alimentos e bebidas.

Vale lembrar que atualmente o tema sobre rotulagem nutricional frontal tem sido pauta prioritária a respeito de um novo modelo obrigatório no Brasil e em outros países pertencentes ao MERCOSUL, em que a ANVISA junto ao Ministério da Saúde (MS), e outras entidades como a academia, a indústria e as organizações sociais da saúde, visam tornar a leitura mais simples e alertar

o consumidor sobre os componentes nutricionais dos alimentos (BRASIL, 2018).

Com o intuito de combater o sobrepeso e a obesidade, o MS e a ANVISA entendem que a localização do rótulo nutricional a frente da embalagem do alimento, contendo as informações sobre a quantidade de açúcares, gorduras totais, gorduras saturadas, gorduras *trans* e sódio podem contribuir no esclarecimento das informações nutricionais aumentando o poder de escolha dos consumidores e alertando-os sobre os excessos desses componentes (BRASIL, 2018).

Além das elucidações das características nutricionais aos consumidores, a análise sensorial de alimentos é outro fator fundamental quando se está desenvolvendo um novo produto, ou testando novos ingredientes.

Dentre os vários métodos apresentados, destacam-se os métodos sensoriais afetivos que avaliam o grau no qual o consumidor gosta ou não gosta de um produto ou sua preferência por um produto em relação a outro. Estes métodos são indicados para fazer comparações entre produtos concorrentes, desenvolver novos produtos ou aperfeiçoar a qualidade de um alimento ou bebida (CALLEJO, 2011; DAROUB; OLABI; TOUFEILI, 2010; HOUGH et al., 2006).

Para a realização dos testes afetivos em laboratórios são necessários, no mínimo, 30 indivíduos potencialmente consumidores do produto (HOUGH et al., 2006). Os métodos variam entre o teste pareado o qual se avalia se há preferência dos consumidores entre os dois produtos, o teste de ordenação em que o avaliador ordena as amostras da que mais gostou e da que menos gostou, e por fim o teste de escala hedônica de nove pontos para a avaliação da aceitabilidade de um produto (CARDELLO, 2017; LIM, 2011; YU; YIN; ZHOU, 2018).

Dos métodos apresentados, a escala hedônica estruturada de 9 pontos é o método afetivo mais utilizado entre os pesquisadores em trabalhos acadêmicos e as indústrias. Este método tem por objetivo quantificar um

determinado caráter (ex.: textura, sabor, etc) permitindo não só a avaliação de mais de um atributo como também permiti inferir sobre a preferência entre várias amostras (CARDELLO, 2017; LIM, 2011).

Pães, bolos, biscoitos e todos os produtos derivados da farinha de trigo são produtos pertencentes a uma categoria de produtos consumidos em todo mundo, e por isso suas características sensoriais são cuidadosamente avaliadas. Callejo et al. (2011) reporta que atributos como textura, sabor, odor, cor da crosta e do miolo, além do aroma são usados para descrever a qualidade de pães, bolos, etc.

Em casos como a substituição de gordura em bolos de maneira geral, as avaliações sensoriais são de extrema importância, pois se presume que o substituto de gordura mimetize a gordura em relação às suas funções físicas e sensoriais conferindo sabor, palatabilidade, textura, estrutura e lubricidade (RODRIGUEZ et al., 2017).

Diante disso, a qualidade sensorial desses produtos pode ser avaliada por métodos afetivos (subjetivos) - como teste de aceitação dos consumidores - e por métodos analíticos (objetivos) criando dessa maneira um perfil sensorial ao produto. Tais métodos têm sido fortemente correlacionados entre análises instrumental e sensorial (CALLEJO, 2011).

Na literatura tem se encontrado diversos estudos sobre as características sensoriais de *muffins*, sendo o método afetivo – teste de aceitabilidade em escala hedônica (9 pontos) mais utilizado entre os pesquisadores. Soumya et al. (2017) por exemplo, ao investigar os efeitos de conservadores (capim-limão, alho e canela) em *muffins*, utilizaram um painel semi-treinado (n = 10) para avaliar atributos como aparência, cor (miolo e crosta), maciez, sabor e qualidade geral (SOUMYA et al., 2017).

Torta residual de óleo de coco tem sido aplicada como substituto de farinha em *muffins* tendo seus atributos sensoriais como aparência, textura, sabor, aroma e aceitabilidade geral avaliados por painel semi-treinado (n = 25) em escala hedônica de 9 pontos.

Com base nos fundamentos expostos, o objetivo deste capítulo é quantificar e avaliar os componentes nutricionais (umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e valor energético) e os atributos sensoriais (textura, sabor, aspecto geral) e intenção de compra de *muffins* elaborados com redução do teor de gordura e adição de succinil quitosana.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Ingredientes

A succinil quitosana (SQ) foi obtida a partir da quitina do krill Antártico (*Euphausia superba*), por meio da síntese de desacetilação em meio alcalino da quitina seguido da modificação química pelo processo de succinilação com anidrido succínico e etanol. Todo o processo foi elaborado no Laboratório de Tecnologia de Alimentos III, do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São Paulo (USP).

Os *muffins* foram elaborados de acordo com RIOS et al. (2018). A relação de materiais utilizados e suas proporções para a elaboração dos *muffins* foram: 300 g de farinha de trigo Tipo I (Dona Benta, Brasil), 214,4 g de açúcar refinado (União, Brasil), 32,1 g de ovo em pó pasteurizado (Cooperovos, Brasil), 10,8 g de leite em pó desnatado (La Sereníssima, Brasil), 6,2 g de fermento químico (Royal, Brasil). As proporções de óleo e água, respectivamente, para cada formulação são: FR 0 %: 171,3 g de óleo de girassol e 350 g de água; FR 25 %: 128,5 g e 348 g; FR 50 %: 85,65 g e 365 g; FR 75 %: 42,8 g e 390 g; FR 100 %: 0 e 421 g. As quantidades de 6 g de SQ em pó (2 % em relação a farinha) (FCF – USP) e 171,3 g de água destilada para hidratação foram mantidas constantes para todas formulações que continham SQ. As porcentagens variam de 0 % em que se refere à formulação com zero redução de óleo até 100 % que se refere à redução total de óleo. A metodologia do processo foi a mesma utilizada no Capítulo 3, item 2.2.3 deste presente trabalho.

### 2.2. Composição centesimal

Para fins de quantificação dos macronutrientes em *muffins* com reduzido teor de gordura e adição de succinil quitosana, primordialmente a análise de umidade foi executada. No entanto, as respostas obtidas neste teste não estão relacionadas com a análise de umidade realizada no Capítulo 3 deste presente

trabalho. As formulações elaboradas foram: FR 0 %, FR 25 %, FR 50 %, FR 75 % e FR 100 %, conforme descrito acima no item 2.1.

#### 2.2.1. Umidade e resíduo mineral total (cinzas)

A determinação de umidade por secagem direta em estufa a 105 °C ocorreu conforme a metodologia 012/IV do Instituto Adolfo Lutz (2004). O resíduo mineral total dos *muffins* foi determinado de acordo com o método 900.02 da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1998).

#### 2.2.2. Lipídios

A determinação do teor de Lipídios foi realizada por extração direta em Soxhlet de acordo com o método 920.39,C da A.O.A.C (1998).

#### 2.2.3. Proteínas

A determinação de proteínas, baseada na determinação de nitrogênio total pelo processo de micro Kjeldahl, empregando-se o fator 6,25 foi realizada de acordo com o método 991.20 da A.O.A.C (1998).

#### 2.2.4. Carboidratos e valor energético (VE)

Para o cálculo da determinação de carboidratos soma-se o conteúdo de umidade, cinzas, lipídios e proteínas, subtraindo a soma desses valores por 100 (Ex.:  $100 - \sum_{\text{teor de umidade, cinzas, lipídios, proteínas.}}$ ), conforme Resolução RDC n° 360, de 23 de dezembro de 2003 com modificações (ANVISA, 2003).

A determinação do valor energético foi baseada no cálculo proposto pela RDC n° 360, de 23 de dezembro de 2003 (ANVISA, 2003) empregando-se os fatores de conversão para carboidratos = 4 kcal / g e 17 kJ / g; proteínas 4 kcal / g e 17 kJ / g e gorduras 9 kcal / g e 37 kJ / g.

Todos os métodos foram realizados em triplicata (em uma única batelada) para cada formulação.

### 2.3. Análise sensorial

A análise sensorial dos *muffins* foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, na FCF - USP, sob aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCF – USP.

Foram oferecidos aos avaliadores quatro formulações de *muffins* com reduzido teor de gordura e adição de succinil quitosana pelos seguintes níveis de redução de gordura: Controle (0 %), 25 %, 50 % e 75 %. A preparação dos bolos se deu com 24 horas de antecedência ao teste sensorial, sendo embalados em sacos plásticos e armazenados em temperatura de 20 °C em câmara climatizada, até o momento de servir.

O critério de escolha das formulações foi tomado como base a análise de TPA, o qual levou-se em conta, sobretudo, as melhores respostas na taxa de endurecimento dos *muffins*, bem como de outras características observadas ao longo das análises. E que, portanto, foi decisiva para a eliminação da formulação com redução máxima de gordura (FR 100 %). No entanto, a formulação de 75 %, em tese, deveria ser eliminada seguindo este critério. Porém, o teste de aceitação e intenção foi conduzido para esta amostra a fim de observar se os avaliadores notariam uma relativa perda de qualidade nestes bolos, como foi detectado pela análise instrumental de textura.

Foram feitos quatro cortes longitudinais nos *muffins* e servido 1/4 de cada formulação em pratos plásticos codificados e servidos sequencialmente em blocos completos balanceados, contendo aproximadamente 30 g de produto no total para apreciação do provador. A codificação das amostras foi feita por meio da utilização de códigos com três dígitos aleatoriamente para cada amostra.

Os provadores foram encaminhados às cabines individuais, com iluminação artificial branca. Foi solicitado aos mesmos que entre uma amostra e outra, bebesses água e consumisse biscoito de sabor neutro tipo *cream craker* para diminuir a interferência de sabor entre as amostras. Após provar

cada amostra os participantes preencheram a “Ficha de avaliação sensorial” (Anexo III) fornecida junto à primeira amostra.

### 2.3.1. Casuística

Para a condução da análise sensorial dos *muffins* foram selecionados 100 voluntários (adultos e de ambos os sexos feminino e masculino) envolvendo estudantes, funcionários e docentes, compondo um painel não treinado de avaliadores. Os critérios de exclusão dos indivíduos se deram por conta dos seguintes pontos: tratamento médico, dietas especiais e alergias aos componentes da formulação.

Antes do início dos testes, todos os participantes leram e aceitaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO II), podendo desistir da avaliação a qualquer momento.

### 2.3.2. Escala hedônica e intensão de compra

Para tanto, foi executado o método sensorial afetivo, por meio de escala hedônica de 9 pontos, em que 1 corresponde a “*desgostei muitíssimo*” e o ponto 9 em “*gostei muitíssimo*”.

Ainda na ficha de avaliação também foi incluída uma escala de 5 pontos em que 1 representa “*Certamente não compraria*” e 5 representa “*Certamente compraria*”, medindo-se assim o grau de certeza que o avaliador (a) estaria disposto em comprar o produto.

Além do mais, os avaliadores foram questionados se, durante a análise, eles notaram diferenças entre as amostras, e que explicitassem sobre o que mais gostaram e menos gostaram nos bolos, justificando suas respostas.

#### 2.4. Análise estatística

Foram determinadas as médias e desvio padrão. A análise estatística foi realizada por meio do teste de variância ANOVA entre as formulações e posteriormente pelo teste de comparação das médias *Tukey HSD* com nível de significância de 5%, executando o programa MiniTab<sup>®</sup> Statistical Software versão 18 (Pensilvânia, EUA).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Efeitos da redução de gordura e adição de succinil quitosana na composição centesimal dos muffins

Os valores obtidos nas análises de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, carboidratos e valor energético para *muffins* com redução na gordura e adição de succinil quitosana (SQ) encontram-se na Tabela 1.

Conforme a redução gradativa de gordura nas formulações aumentou-se o teor de umidade nos *muffins*, variando pouco ( $P > 0,05$ ) até uma redução de 50 % da gordura. De fato, os bolos sem gordura na formulação (FR 100 %) apresentou um maior teor de umidade (38,95 %) entre os produtos obtidos, o que é coerente com a quantidade de água adicionada na receita para ajustar a viscosidade da massa a todas as outras formulações, como já discutido por Rios, et al. (2018), o que levou a diminuição da vida de prateleira desses bolos.

Em relação ao teor de cinzas (resíduo mineral total) nos *muffins* houve um ligeiro aumento ( $P < 0,05$ ) em relação à formulação controle (FR 0 %), porém nenhuma tendência foi observada, tendo em vista que quando reduzida a gordura pela metade, o conteúdo de cinzas também diminuiu. No processo de extração da quitina, uma das etapas principais é a desmineralização do material quitinoso em ácido clorídrico a fim de purificar o produto final. Portanto neste caso, a presença de SQ não afetou este parâmetro nos resultados apresentados.

Os resultados do teor de lipídios (Tabela 1), como já esperados, apresentaram uma queda significativa ( $P < 0,05$ ) conforme a redução e ausência da gordura nos *muffins*, variando de 19,10 % para o muffin contendo o máximo de gordura (FR 0%) até 1,40 % para àquele com ausência total e presença de SQ (FR 100 %). Com exceção do ovo em pó empregado na formulação, a escolha dos ingredientes, como por exemplo, o uso de leite desnatado e a ausência de emulsificantes com base em mono e di-glicerídios de ácidos graxos foi propositadamente pensada com o intuito de minimizar ao

Tabela 4. Composição físico-química de *muffins* com reduzido teor de gordura contendo succinil quitosana

Produtos	Umidade %	Cinzas <sup>1</sup> %	Lipídios <sup>1</sup> %	Proteínas <sup>1</sup> %	Carboidratos <sup>1,2</sup> %	VE <sup>3</sup> kcal
FR 0%	23,03 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,78 ± 0,03 <sup>ab</sup>	19,10 ± 0,12 <sup>a</sup>	11,31 ± 0,77 <sup>ab</sup>	45,78 ± 0,77 <sup>a</sup>	219,0 ± 3,4 <sup>a</sup>
FR 25 %	23,86 ± 0,36 <sup>a</sup>	0,81 ± 0,03 <sup>ab</sup>	14,66 ± 0,23 <sup>b</sup>	10,84 ± 0,00 <sup>ab</sup>	49,89 ± 0,27 <sup>b</sup>	178,4 ± 0,0 <sup>b</sup>
FR 50 %	24,23 ± 0,95 <sup>a</sup>	0,75 ± 0,00 <sup>a</sup>	10,30 ± 0,10 <sup>c</sup>	10,44 ± 0,46 <sup>a</sup>	54,28 ± 1,27 <sup>b</sup>	136,6 ± 2,7 <sup>c</sup>
FR 75 %	29,18 ± 0,35 <sup>b</sup>	0,83 ± 0,03 <sup>b</sup>	5,69 ± 0,15 <sup>d</sup>	11,35 ± 0,44 <sup>ab</sup>	52,95 ± 0,65 <sup>b</sup>	98,7 ± 2,4 <sup>d</sup>
FR 100 %	38,95 ± 0,78 <sup>c</sup>	0,82 ± 0,03 <sup>ab</sup>	1,40 ± 0,15 <sup>e</sup>	11,89 ± 0,22 <sup>b</sup>	46,95 ± 0,80 <sup>a</sup>	62,0 ± 1,5 <sup>e</sup>
<b>P - Valor</b>	<b>0,000</b>	<b>0,018</b>	<b>0,000</b>	<b>0,025</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>

Média ± desvio padrão (n = 3). Valores seguidos de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P < 0,05).

<sup>1</sup>Resultados expressos em base seca.

<sup>2</sup>Calculado por diferença.

<sup>3</sup>Valor Energético

máximo a interferência deste componente nas propriedades dos bolos. A SQ naturalmente não contém quantidades significativas de lipídios devido à etapa de remoção de gordura durante o processo de extração da quitina. Neste sentido, o uso da SQ em formulações é indicado para o desenvolvimento de produtos cujo objetivo seja reduzir os níveis de gordura no produto final, pois a mesma não afeta a quantidade deste nutriente quando observada.

Já em relação aos valores de proteínas apresentados (Tabela 1), os mesmos encontram-se inseridos em um intervalo restrito (de 10,44 % a 11,89 %), variando significativamente pouco ( $P < 0,05$ ) conforme a redução da gordura. De fato, é constatado que, na estrutura molecular da quitina, e conseqüentemente da estrutura da SQ ocorre a presença de grupamentos amidas, cuja composição contem átomos de nitrogênio (BASHIR et al., 2016; PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009). No entanto, os mesmos não afetaram os teores de proteínas presentes na formulação dos *muffins*. Isso se deve ao fato de que a quantidade empregada de SQ é relativamente baixa (apenas 2 %) em relação à massa total do bolo, o que não ocasionaria um efeito considerável ao produto final.

E da mesma forma como ocorre para teores de cinzas e lipídios, no processo de extração da quitina, uma das etapas é a desproteínização do material quitinoso em solução aquosa de hidróxido de sódio (SCHMIDT, 2006; YEN; YANG; MAU, 2009). Conseqüentemente, seus derivados tampouco apresentam quantidades significativas deste componente, como é o caso da SQ. Desta maneira, infere-se que toda a proteína presente nos *muffins* resulta da natureza da farinha de trigo, dos ovos e do leite empregados na receita.

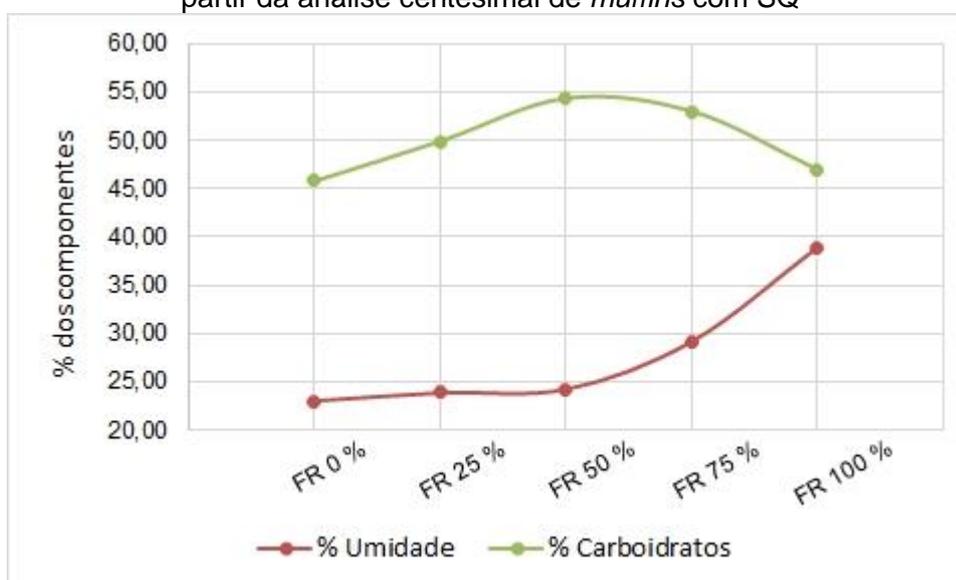
Os valores de carboidratos presentes nos *muffins*, como mostra a Tabela 1, foram afetados simultaneamente com a adição de SQ e a redução de gordura nas formulações. De fato, a diminuição de gordura e conseqüentemente a presença da SQ aumentou ( $P < 0,05$ ) o teor deste componente nos produtos com até 50 % de redução. No entanto, a partir de

uma redução de 75 % e 100 % da gordura, os valores de carboidratos decaíram nestes bolos.

Esta tendência está diretamente relacionada com os valores de umidade encontrados, pois na medida em que ocorre a redução da gordura nas formulações, a quantidade de água aumenta ligeiramente até 50 % e aumenta consideravelmente a partir de 75 %, no qual se tem maiores quantidades de água no produto final. Como o cálculo de carboidratos é feito de maneira indireta, ou seja, por meio de cálculo teórico, subtraindo-se os valores de todos os componentes de um total de 100 % (ANVISA, 2003), obrigatoriamente os resultados de carboidratos sofreriam este efeito.

Este comportamento pode ser mais bem visualizado a partir da Figura 1 que ilustra claramente o efeito do teor de umidade nos valores calculados para os carboidratos.

Figura 1. Relação entre o teor de umidade (%) e carboidratos (%) a partir da análise centesimal de *muffins* com SQ



Por fim, o VE dos *muffins* foi calculado com base nos fatores de conversão (ANVISA, 2003) e expressos na Tabela 1. Como já esperado, estes valores diminuíram na medida em que a % de gordura foi sendo retirada das formulações, configurando desta forma produtos de maior aporte nutricional.

Se considerarmos uma porção de 30,0 g por muffin, os bolos com 75 % e 100 % de redução de gordura podem conter a INC comparativa com alegação de “baixo valor energético” em seus rótulos, em comparação ao alimento de referência (amostra controle), de acordo com as condições para declaração da INC, da RDC n. 54 de 12 de novembro de 2012 (ANVISA, 2012), no item 5.1.

### 3.2. Parâmetros sensoriais em aceitação global e intenção de compra dos muffins com adição de succinil quitosana

As notas atribuídas (em escala hedônica de 1 a 9 pontos) no teste de aceitabilidade com relação aos parâmetros de textura, sabor e aspecto geral dos *muffins* com reduzido teor de gordura (0, 25, 50 e 75 %) e adição de SQ encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados dos atributos sensoriais do teste de aceitabilidade (escala hedônica de 1 – 9 pontos)

Produto	Textura	Sabor	Aspecto geral
FR 0 %	7,20 ± 1,51 <sup>b</sup>	7,01 ± 1,62 <sup>b</sup>	7,25 ± 1,39 <sup>b</sup>
FR 25 %	6,82 ± 1,46 <sup>b</sup>	6,94 ± 1,42 <sup>ab</sup>	6,99 ± 1,25 <sup>b</sup>
FR 50 %	7,16 ± 1,36 <sup>b</sup>	6,89 ± 1,40 <sup>b</sup>	7,19 ± 1,30 <sup>b</sup>
FR 75 %	5,96 ± 1,71 <sup>a</sup>	6,37 ± 1,58 <sup>a</sup>	6,28 ± 1,51 <sup>a</sup>
<b>P-valor</b>	<b>0,000</b>	<b>0,011</b>	<b>0,000</b>

Média ± desvio padrão (n = 3). Valores seguidos de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

De acordo com o atributo de textura avaliado pelos provadores, as notas variaram entre 7,20 a 5,96 (P < 0,05), referentes aos termos hedônicos “gostei regularmente” e “indiferentes”, sendo atribuídas às formulações com redução de até 50 % da gordura e 75 %, respectivamente.

Estas respostas sensoriais são interessantes, pois no teste de perfil de textura (TPA) de *muffins* com succinil quitosana foi verificado que a partir da

redução de 75 % em gordura, a taxa de endurecimento aumentou, prejudicando de alguma forma, a qualidade final do bolo (RIOS et al., 2018). Sendo assim, por meio das respostas do teste sensorial, é possível notar que, embora os avaliadores selecionados não fizessem parte de um painel treinado, mas que supostamente são potenciais consumidores, uma grande parte foi capaz de sentir uma perda de qualidade deste produto.

Opiniões como “massa densa” ou “textura borrachuda” foram comuns para a formulação FR 75 %. E o objetivo pelo qual essa formulação foi escolhida para o teste, foi exatamente para saber se os provadores conseguiriam notar alguma diferença deste bolo para os demais.

Em relação ao sabor, as notas diminuíram levemente ( $P < 0,05$ ) variando entre “gostei regularmente” para bolos com até 50 % de redução em gordura, e “gostei ligeiramente” para àquele com 75 %. Tendo em vista que não houve emprego de qualquer tipo de aroma na receita, além do açúcar notadamente presente, as atribuições de notas 6 e 7 aos *muffins* se interpreta de maneira bastante positiva à qualidade do produto final.

Comentários como “sabor adocicado”, “sabor suave” ou até mesmo “sabor indiferente” foram anotados pelos provadores. Por outro lado, é curioso notar que dois provadores apenas relataram ter sentido sabor de “peixe” ou “gosto forte de camarão”, uma vez que os participantes eram indagados sobre ter algum tipo de restrição e até mesmo alergia à camarão ou frutos do mar, por se tratar de uma formulação contendo derivado de crustáceo.

Discute-se na literatura sobre o efeito das informações prévias pelos quais os participantes recebem antes da análise, podendo induzi-los ao erro e prejudicando de alguma forma as respostas, já que se trata de um painel não treinado.

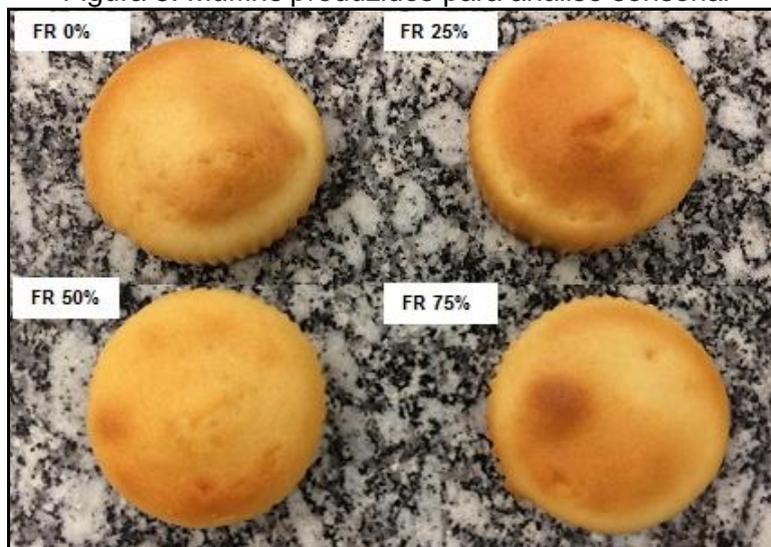
O mesmo vale para o atributo “aspecto geral”, em que as notas variaram entre 6 e 7 para a formulação FR 75 % e FR 0 % até 50 %, respectivamente. Este comportamento é similar quando a gordura é substituída por amido de mandioca como substituto de gordura em *muffins* com um efeito pronunciado

na rigidez do produto que está direcionado nos resultados de firmeza na análise instrumental (RODRIGUEZ et al., 2017). Zahn et al. (2010) apontam resultados próximos quando a inulina afetam as características sensoriais de *muffins* com níveis de gordura reduzidos (ZAHN; PEPKE; ROHM, 2010).

De maneira globalizada, os provadores avaliam a cor interna e externa dos bolos, a característica do miolo, o volume, bem como a apresentação das amostras no momento do teste. De todas as características descritas por eles, as mais relevantes destacam como “alvéolo muito aberto entre a casca e o miolo”, ocasionado provavelmente por uma falha no processo de batimento da massa, ou “volume baixo”, o que no caso é justificável pois em cada forminha foi colocado somente 30 g de massa, resultando em *muffins* com volumes mais baixos.

A Figura 2 ilustra os bolos produzidos com SQ para o teste sensorial, o qual os mesmos foram cortados em quatro partes cada, e servidos somente 1/4 para cada formulação aos provadores, totalizando quatro pedaços por porção.

Figura 8. *Muffins* produzidos para análise sensorial



Na literatura tem sido reportados estudos com quitosana e oligossacarídeos de quitosana em pães (KERCH et al., 2008; LAFARGA et al., 2013; RAKCEJEVA et al., 2011), e o que se tem tratado nestas pesquisas são

principalmente as qualidades de textura, cor, volume, e, sobretudo o comportamento térmico desses produtos (KERCH et al., 2012a, 2012b). No entanto, os testes sensoriais não são desenvolvidos, o que dificulta a comparação deste presente estudo com os demais.

Os pontos da escala no teste de intenção de compra estão listados na Tabela 3, os quais variam entre 3,56 e 2,74, sendo a última a mais inferior atribuída à formulação FR 75 %.

Tabela 3. Escala de intenção de compra (de 1 a 5 pontos) para *muffins*.

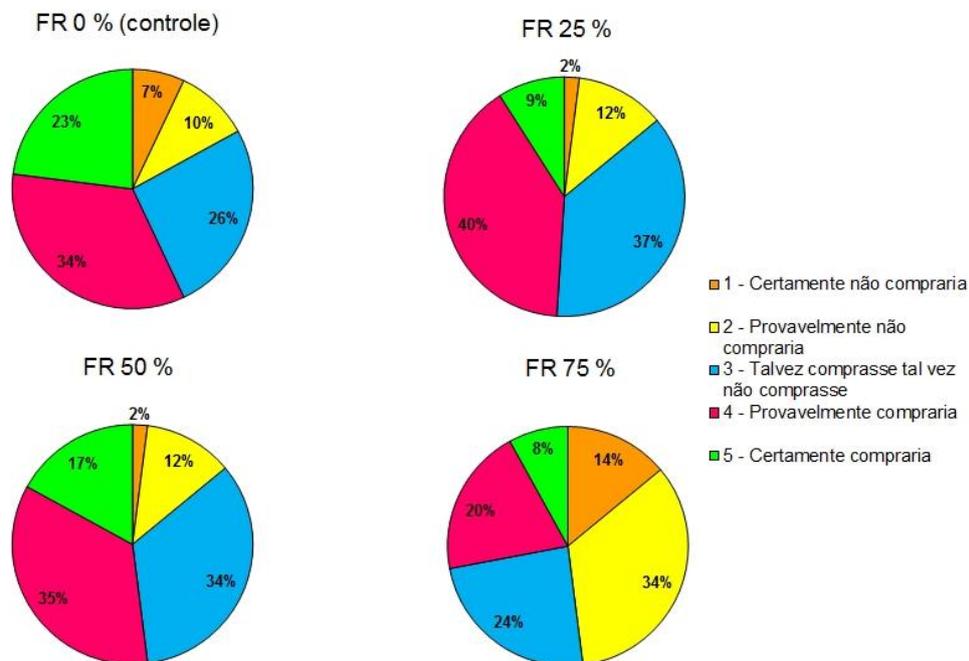
Produtos	Intenção de compra
FR 0 %	3,56 ± 1,15 <sup>b</sup>
FR 25 %	3,42 ± 0,88 <sup>b</sup>
FR 50 %	3,53 ± 0,97 <sup>b</sup>
FR 75 %	2,74 ± 1,16 <sup>a</sup>
<b>P- Valor</b>	<b>0,000</b>

Média ± desvio padrão (n = 3). Valores seguidos de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (P < 0,05) pelo teste de Tukey.

Na Figura 3 é apresentado quatro gráficos divididos por formulações em que se contabilizou a quantidade de provadores (em porcentagem) por ponto atribuído, mostrando com mais clareza o nível de aceitação dos provadores. Nota-se que para quase todas as amostras os pontos 3 (“talvez comprasse talvez não comprasse”) e 4 (“provavelmente compraria”) predominam em mais da metade das avaliações dos provadores.

Os pontos 1 (certamente não compraria) e 2 (provavelmente não compraria) pertencem às fatias menores do gráfico, que designa baixa aceitação do produto. Por exemplo, no último gráfico, os pontos 2 e 3 predominam, mostrando uma insatisfação dentre os provadores da formulação com redução de 75 % em gordura.

Figura 3. Intenção de compra de provadores na análise sensorial de *muffins* com reduzido teor de gordura e adição de succinil quitosana



Já nas amostras com ausência de SQ (FR 0 %) e com 50 % da presença de gordura, há uma porcentagem considerável de provadores que “certamente comprariam” (ponto 5) o produto.

É interessante ressaltar que as formulações propostas a este presente trabalho são formulações simples, sem adição de qualquer tipo de aditivo objetivando verificar unicamente o efeito da gordura no que diz respeito a sua diminuição e, conseqüente sua substituição por succinil quitosana. Na indústria, por exemplo, o uso de ingredientes com potenciais características tecnológicas como os emulsificantes, melhoradores e conservantes em conjunto à funcionalidade tecnológica da SQ favoreceriam mais ainda a qualidade final dos bolos, bem como de outros produtos.

Deste modo, a análise sensorial apresentou ótimas respostas dos consumidores para *muffins* com SQ cujo ingrediente se comportou

positivamente em formulações básicas de bolos com níveis reduzidos de gordura em até 50 % do seu total.

#### 4. CONCLUSÃO

Neste capítulo foi apresentado os efeitos da redução de gordura em *muffins* com adição de succinil quitosana em relação a composição centesimal, ou seja, seus efeitos na umidade, cinzas, teor de lipídios, proteínas e valor energético. E também se avaliou por meio do teste de aceitabilidade (em escala hedônica de 9 pontos) e a intenção de compra (escala numérica de 1 a 5) de potenciais consumidores de *muffins*. Para a realização dos testes foram elaboradas 4 formulações (FR 0 %, FR 25 %, FR 50 % e 75 %) de *muffins* com redução gradual da gordura e adição de succinil como um substituto de gordura.

Com relação a análise centesimal, os *muffins* com maior redução de gordura apresentaram maior teor de água em sua estrutura, justamente por conta da adição de mais água nas formulações. *Muffins* com até 50 % de redução em gordura apresentaram valores de umidade significativamente iguais, porém a partir da redução de 75, uma maior quantidade de umidade foi observada. Já o teor de cinzas e proteínas pouco se alteraram em relação ao controle não demonstrando nenhuma tendência.

Além do mais, a presença da SQ poderia aumentar os resultados de proteínas devido a presença de átomos de nitrogênio em sua estrutura molecular. No entanto a concentração de 2% de SQ contribuiu muito pouco para alterar este componente. Por fim, com a redução gradativa da gordura, os teores de lipídios demonstraram uma tendência negativa, como já era esperado.

Os resultados de carboidratos aumentaram nas formulações com até 50 % de gordura presente, porém foi observado que a partir deste nível, os *muffins* FR 75% e FR 100 % tenderam a diminuir o valor este parâmetro Tendo em vista que o método usado para determinar os valores de carboidratos foi baseado no cálculo de diferença, esses resultados sofreram uma diminuição resultante da adição excessiva de água nas duas últimas formulações. Os

valores de valor energético consequentemente decaíram após a diminuição de gorduras nos *muffins*, promovendo aporte nutricional ao produto final.

A análise sensorial demonstrou respostas satisfatórias tanto no teste de aceitabilidade quanto na avaliação de intenção de compra. A média dos resultados variou entre os pontos 6 e 7 do teste de aceitabilidade e demonstrou que os *muffins*, cujas formulações são básicas sem adição de nenhum tipo de aditivo, foram aceitos.

Também no teste de intenção de compra, as notas de maior incidência foram 3 e 4, cujos termos hedônicos significam “talvez comprasse, talvez não comprasse” e “provavelmente compraria”. Além das opiniões subjetivas dos provadores, que em sua maioria aprovaram a textura e o sabor adocicado devido à presença do açúcar e da pouquíssima interferência da succinil quitosana, praticamente imperceptível pelos provadores.

Nesse sentido, diante dos resultados apresentados é notável que a substituição de gordura por succinil quitosana promove melhores perfis em sua composição lipídica e energética, bem como em suas características sensoriais, sendo aspectos fundamentais para a realização de um produto diferente e bastante consumido entre o público de várias faixas etárias.

## REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC n. 360, de 23 de dezembro de 2003**. Aprova o Regulamento Técnico De Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360\\_23\\_12\\_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360_23_12_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc). Acesso em 31 de agosto de 2018.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC n.54, DE 12 DE NOVEMBRO DE 2012**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0054\\_12\\_11\\_2012.pdf/c5ac23fd-974e-4f2c-9fbc-48f7e0a31864](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0054_12_11_2012.pdf/c5ac23fd-974e-4f2c-9fbc-48f7e0a31864). Acesso em 31 de agosto de 2018.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16.ed. Arlington: AOAC, 1998. v. 1 – 2.
- BASHIR, S. et al. Synthesis, characterization, properties of N-succinyl chitosan-g-poly (methacrylic acid) hydrogels and in vitro release of theophylline. **Polymer (United Kingdom)**, v. 92, p. 36–49, 2016.
- BERTOLIN, T. E. et al. Elaboration of biscuits with oatmeal and fat palm with added L-leucine and calcium for sarcopenia. v. 33, n. June, p. 345–354, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Princípios no MERCOSUL para a rotulagem frontal de alimentos com conteúdo excessivo de gorduras, sódio e açúcares**. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/junho/18/Acuerdo-Rotulado-Frontal.pdf>. Acesso em: 03 de set. de 2018.
- CALLEJO, M. J. PRESENT SITUATION ON THE DESCRIPTIVE SENSORY ANALYSIS. **Journal of Sensory Studies**, v. 26, p. 255–268, 2011.
- CAPRILES, V. D. et al. Physical and sensory properties of regular and reduced-fat pound cakes with added amaranth flour. **Cereal Chemistry**, v. 85, p. 614–618, 2008.
- CARDELLO, A. V. Hedonic scaling: assumptions, contexts and frames of reference. **Current Opinion in Food Science**, v. 15, p. 14–21, 2017.
- DAROUB, H.; OLABI, A.; TOUFEILI, I. Designing and testing of an Arabic version of the hedonic scale for use in acceptability tests. **Food Quality and Preference**, v. 21, n. 1, p. 33–43, 2010.
- HOUGH, G. et al. Number of consumers necessary for sensory acceptability tests. **Food Quality and Preference**, v. 17, n. 0950, p. 522–526, 2006.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: IAL,

2004, p. 44 - 45.

JARPA-PARRA, M. et al. Original article Quality characteristics of angel food cake and muffin using lentil protein as egg / milk replacer. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 1604–1613, 2017.

KERCH, G. et al. Effect of chitosan on physical and chemical processes during bread baking and staling. **European Food Research and Technology**, v. 226, p. 1459–1464, 2008.

KERCH, G. et al. A DSC study of the effect of ascorbic acid on bound water content and distribution in chitosan-enriched bread rolls during storage. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, n. 1, p. 73–78, 2012a.

KERCH, G. et al. A DSC study of the effect of bread making methods on bound water content and redistribution in chitosan enriched bread. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, n. 1, p. 185–189, 2012b.

KUMARI, R. et al. Use of vegetable oils, emulsifiers and hydrocolloids on rheological, fatty acid profile and quality characteristics of pound cake. **Journal of Texture Studies**, v. 42, n. 5, p. 377–386, 2011.

LAFARGA, T. et al. Chitosan-containing bread made using marine shellfishery byproducts: Functional, bioactive, and quality assessment of the end product. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 8790–8796, 2013.

LIM, J. Hedonic scaling : A review of methods and theory. **Food Quality and Preference**, v. 22, n. 8, p. 733–747, 2011.

MANCEBO, C. M.; RODRIGUEZ, P.; GÓMEZ, M. Assessing rice flour-starch-protein mixtures to produce gluten free sugar-snap cookies. **LWT - Food Science and Technology**, v. 67, p. 127–132, 2016.

MANISHA, G.; SOUMYA, C.; INDRANI, D. Studies on interaction between stevioside, liquid sorbitol, hydrocolloids and emulsifiers for replacement of sugar in cakes. **Food Hydrocolloids**, v. 29, n. 2, p. 363–373, 2012.

MARTÍNEZ-CERVERA, S.; SALVADOR, A.; SANZ, T. Comparison of different polyols as total sucrose replacers in muffins: Thermal, rheological, texture and acceptability properties. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 1–8, 2014.

MCCLEMENTS, D. J.; DEMETRIADES, K. An integrated approach to the development of reduced-fat food emulsions. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 38, n. 6, p. 511–36, 1998.

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, p. 641–678, 2009.

PSIMOULI, V.; OREOPOULOU, V. The effect of fat replacers on batter and

cake properties. **Journal of Food Science**, v. 78, p. 1495–1502, 2013.

RAKCEJEVA, T. et al. Effect of chitosan and chitooligosaccharide lactate on free lipids and reducing sugars content and on wheat bread firming. **European Food Research and Technology**, v. 232, p. 123–128, 2011.

RIOS, R. V. et al. Application of fats in some foods products. **Food Science and Technology**, v. 34, p. 3–15, 2014.

RIOS, R. V. et al. Use of succinyl chitosan as fat replacer on cake formulations. **Lwt**, v. 96, n. May, p. 260–265, 2018.

RODRÍGUEZ-GARCÍA, J. et al. Functionality of several cake ingredients: A comprehensive approach. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 31, n. 4, p. 355–360, 2013a.

RODRÍGUEZ-GARCÍA, J. et al. Effect of Fat Replacement by Inulin on Textural and Structural Properties of Short Dough Biscuits. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 10, p. 2739–2750, 2013b.

RODRIGUEZ, E. et al. Effect of modified cassava starch as a fat replacer on the texture and quality characteristics of muffins. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. DOI: 10.10, n. 0, p. 0, 2017.

ROMAGNY, S.; GINON, E.; SALLES, C. Impact of reducing fat , salt and sugar in commercial foods on consumer acceptability and willingness to pay in real tasting conditions : A home experiment. **Food Quality and Preferences**, v. 56, p. 164–172, 2017.

RONDA, F. et al. Rheological study of layer cake batters made with soybean protein isolate and different starch sources. **Journal of Food Engineering**, v. 102, n. 3, p. 272–277, 2011.

SCHMIDT, C. G. Obtainment of Chitin and Production of Chitosan From Residues of Shrimp and Crab. n. MARCH, 2006.

SOUMYA, C. et al. Comparative study on batter , quality characteristics and storage stability of mu ffi ns using natural ingredients ( preservatives ) and synthetic preservatives. **Journal of Food Processing and Preservation**, n. May 2016, p. 1–9, 2017.

SOZER, N. et al. Improvement of shelf life stability of cakes. **Journal of Food Quality**, v. 34, n. 3, p. 151–162, 2011.

URETA, M. M.; OLIVERA, D. F.; SALVADORI, V. O. Quality Attributes of Muffins: Effect of Baking Operative Conditions. **Food and Bioprocess Technology**, p. 1–8, 2013.

WILDERJANS, E.; BRIJS, K.; DELCOUR, J. A. Pound cake polymeric ingredients and their impact on product quality Edith Wilderjans, Kristof Brijs

and Jan A. Delcour. p. 1–4, 2008.

YEN, M. T.; YANG, J. H.; MAU, J. L. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 1, p. 15–21, 2009.

YU, P.; YIN, M.; ZHOU, W. Design of experiments and regression modelling in food flavour and sensory analysis: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, n. November 2017, p. 202–215, 2018.

ZAHN, S.; PEPKE, F.; ROHM, H. Effect of inulin as a fat replacer on texture and sensory properties of muffins. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p. 2531–2537, 2010.

ZHOU, J.; FAUBION, J. M.; WALKER, C. E. Evaluation of different types of fats for use in high-ratio layer cakes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 8, p. 1802–1808, 2011.

## **ANEXOS**

## ANEXO I – FICHA TÉCNICA DO ANDRIDO SUCCÍNICO



## Certificate of Analysis

8.00683.1000 Succinic anhydride for synthesis  
Batch S6789783

Batch Values		
Assay (morpholine method)	98.4	%
Identity (IR)	passes test	
Melting range (lower value)	117	°C
Melting range (upper value)	119	°C

Date of examination (DD.MM.YYYY) 07.11.2013  
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 30.04.2019  
Retested Date (DD.MM.YYYY) 21.04.2016

Dr. Oliver Schramel  
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

## ANEXO II – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

### 1. Informações do Sujeito da Pesquisa

Nome:			
Documento de Identidade nº:		Sexo: ( ) M ( ) F	
Data de Nascimento: / /			
Endereço:		Nº	Complemento:
Bairro:	Cidade:		Estado:
CEP:	Telefones:		

### 2. Informações do Responsável Legal

Nome:			
Documento de Identidade nº:		Sexo: ( ) M ( ) F	
Data de Nascimento: / /			
Endereço:		Nº	Complemento:
Bairro:	Cidade:		Estado:
CEP:	Telefones:		

Título do Projeto de Pesquisa: Uso de succinil quitosana como substituto de gordura em formulações de bolos	
3.	
4. Duração da Pesquisa: 4 anos	
5. Nome do pesquisador responsável: Profa.Dra. Suzana Caetano da Silva Lannes	
Cargo/ Função: Professor Associado	Nº do Registro do Conselho Regional:
Instituição: Universidade de São Paulo / FCF TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA	

Somos pesquisadoras da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Estamos realizando uma pesquisa para conhecer e aprimorar preparações de bolos. Caso o participante tenha alergia a camarão, crustáceos ou quaisquer outros frutos do mar, não deverá participar da pesquisa. Serão servidas amostras com 30 g de bolo, em prato plástico, sob temperatura de 20 °C, preparados com até 24 h de antecedência, produzidos e acondicionados de acordo com as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos, no Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. O(a) Sr.(a) receberá amostras de bolos formulados contendo os seguintes ingredientes: farinha de trigo, açúcar refinado, ovo em pó, óleo vegetal de girassol, succinil quitosana, leite em pó desnatado, fermento químico em pó e água.

As análises serão realizadas sempre duas horas antes ou depois das refeições. Convidaremos pessoas que apreciem bolo a experimentar três amostras de produtos, identificadas por diferentes números, e registrar suas impressões referentes à textura, sabor, cor, aspecto geral e intenção de compra de cada uma delas. As três amostras serão servidas de forma separada, uma por vez, e entre uma amostra e outra o(a) Sr.(a) tomará um pouco de água e, se quiser poderá comer um biscoito água e sal. As avaliações são rápidas e não levarão mais do que 10 minutos. Com suas informações poderemos aprimorar a qualidade dos produtos que estamos desenvolvendo, bem como verificar a aceitação dos mesmos.

Os benefícios serão novas formulações e a melhoria do processo de fabricação para que futuramente o consumidor tenha acesso a produtos diferenciados, com sabor agradável e com características benéficas à saúde.

Poderão participar da pesquisa homens e mulheres que gostem de comer bolo (alunos e funcionários da Universidade), maiores de 18 anos, em bom estado de saúde e que não estejam fazendo nenhuma dieta especial. Serão tomados cuidados especiais para evitar que indivíduos subordinados ou diretamente ligados ao pesquisador se sintam obrigados a participar do estudo.

A pesquisa apresenta risco mínimo. Em caso de possíveis problemas alérgicos a algum dos componentes da formulação, estaremos à disposição para o devido amparo, utilizando para assistência médica o SUS (Sistema Único de Saúde), cujo encaminhamento se procederá através da pesquisadora responsável pelo projeto (orientadora).

A participação é voluntária e o Sr.(a) terá o direito de desistir a qualquer momento, com inteira liberdade de participar ou não da pesquisa, sem quaisquer represálias. O Sr.(a) será identificado por um número e todas e quaisquer opiniões e dados pessoais serão mantidos em sigilo. Em caso de dúvidas ou quaisquer outros problemas o(a) Sr.(a) poderá interromper sua participação a qualquer momento.

Dessa forma, convidamos o(a) Sr.(a) a participar de nossa pesquisa e, caso concorde, por gentileza, assine este documento.

Observações complementares:

Estamos à disposição para responder a quaisquer dúvidas quanto às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa através dos contatos:

Profa.Dra. Suzana Caetano da Silva Lannes (Orientadora)  
Av.Prof. Lineu Prestes, 580 bloco 16  
Fone: 3091-3691

Raquel Vallerio Rios (aluna de Doutorado)  
Av.Prof.Lineu Prestes, 580 bloco 16  
Fone: 3091-3691

Consentimento Pós-Esclarecido:

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2018.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do sujeito de pesquisa  
Ou responsável legal

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador responsável

Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos dessa pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo – Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 13A – Butantã – São Paulo – CEP 05508-900. Fone: 3091-3622, fone-fax: 3091-3677 – e-mail: [cepfcf@usp.br](mailto:cepfcf@usp.br)

Obs: O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE deve ser rubricado em todas as folhas, pelo sujeito da pesquisa ou responsável legal e pelo pesquisador responsável, constando as assinaturas na última página. Uma via deverá ser entregue ao sujeito da pesquisa e outra via ficará com o pesquisador responsável que guardará este termo por 5 (cinco) anos.

## ANEXO III - FICHA DE AVALIAÇÃO PARA ANÁLISE SENSORIAL

### FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL DE BOLOS COM BAIXO TEOR DE GORDURA E ADIÇÃO DE SUCCINIL QUITOSANA

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

1. Você está recebendo amostras de bolos com diferentes bases gordurosas. Por favor, prove e avalie as amostras para cada atributo - sabor, maciez e aspecto geral de acordo como as escalas abaixo.

- (1) Desgostei muitíssimo
- (2) Desgostei muito
- (3) Desgostei regularmente
- (4) Desgostei ligeiramente
- (5) Indiferente
- (6) Gostei ligeiramente
- (7) Gostei regularmente
- (8) Gostei muito
- (9) Gostei muitíssimo

Amostra	Textura	Sabor	Aspecto geral

Marque com um X se existe diferença entre as amostras

Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
-----	--------------------------	-----	--------------------------

Caso positivo qual?

\_\_\_\_\_

2. Indique na escala abaixo o grau de certeza que você estaria disposto a comprar se o encontrasse a venda.

- (1) Certamente não compraria
- (2) Provavelmente não compraria
- (3) Talvez comprasse tal vez não comprasse
- (4) Provavelmente compraria
- (5) Certamente compraria

Amostra	Avaliação

a. Justifique sua intenção de compra dizendo:

O que você mais gostou do bolo:

\_\_\_\_\_

E o que você menos gostou do bolo:

\_\_\_\_\_

**OBRIGADA POR SUA PARTICIPAÇÃO!**