

PERFORMANCE DE XILOOLIGOSSACARÍDEO COMO AGENTE CRIOPROTETOR EM CARNE SUÍNA POR IMPREGNAÇÃO A VÁCUO

Performance of xylooligosaccharide as a cryoprotective agent in pork meat
by vacuum impregnation

Marcelle Flores Fernandes de Carvalho¹; Ana Cristina Freitas de Oliveira Meira²;
Larissa Carolina de Moraes³; Jaime Vilela de Resende⁴

¹ Graduada em Engenharia Química, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil (marcelleffernandes.c@gmail.com)

² Doutoranda no Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil (anacristina.engalimentos@gmail.com)

³ Doutoranda no Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil (larissa.carolina.moraes@gmail.com)

⁴ Professor no Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil (jvresende@ufla.br)

Data do recebimento: 30/06/2023 - Data do aceite: 15/08/2023

RESUMO: O congelamento é um método de conservação amplamente empregado na indústria cárnea, porém a formação de cristais de gelo gera impactos na qualidade dos produtos. Nesse contexto, o trabalho objetivou avaliar o potencial crioprotetor de xilooligossacarídeos (XOS) em carne suína. As amostras pré-tratadas e congeladas foram submetidas à flutuação de temperatura forçada (-18 °C e 4 °C). Soluções com maiores concentrações de XOS atuaram inibindo a recristalização de gelo, já que menores cristais de gelo foram observados ($0,0011 \pm 0,0003$ mm). A análise de carboidratos e sólidos solúveis das soluções impregnantes antes e após seu contato com os cubos suínos confirmou a infusão de XOS nas amostras, sendo que a solução com 4,5 % de XOS exibiu a maior variação da concentração de XOS ($-5,596 \pm 0,286$ µg/mL) e sólidos solúveis ($-1,63 \pm 0,35$ °Brix), indicando uma maior impregnação de XOS. As curvas de escoamento do fluido corroboram essa

observação, pois as soluções impregnantes apresentaram perfil de um fluido newtoniano com redução da viscosidade após o processo de impregnação, devido à transferência de XOS da solução impregnante para as amostras. Além disso, foi observado que os cubos impregnados com 4,5 % de XOS exibiram menor perda de fluido por cozimento, indicando que esse carboidrato pode ser empregado com sucesso como agente crioprotetor.

Palavras-chave: Tecido animal. Criopreservação. Congelamento. Carboidrato.

ABSTRACT: Freezing is a widely used conservation method in the meat industry, but ice crystals formation impacts the quality of the products. In this context, this study aimed to evaluate the cryoprotective potential of xylooligosaccharides (XOS) in pork. Pre-treated and frozen samples underwent to forced temperature fluctuation (-18 °C and 4 °C). Solutions with higher concentrations of XOS acted by inhibiting ice recrystallization, as smaller ice crystals were observed (0.0011 ± 0.0003 mm). The analysis of carbohydrates and soluble solids in the impregnating solutions before and after their contact with the pork cubes confirmed the infusion of XOS in the samples, with the solution containing 4.5% XOS showing the greatest variation in XOS concentration (-5.596 ± 0.286 µg /mL) and soluble solids (-1.63 ± 0.35 °Brix), indicating greater XOS impregnation. The fluid flow curve corroborates this observation, as the impregnating solutions presented a Newtonian fluid profile with a reduction in viscosity after the impregnation process, due to the transfer of XOS from the impregnating solution to the sample. Furthermore, it was observed that the cubes impregnated with 4.5% XOS showed less loss of fluid by cooking, indicating that this carbohydrate can be successfully used as a cryoprotective agent.

Keywords: Animal tissue. Cryopreservation. Freezing. Carbohydrate.

Introdução

A carne suína é um alimento amplamente consumido no mundo, e sua ingestão é superior à carne bovina e à de aves. O Brasil é o quarto maior produtor mundial de suínos, sendo aproximadamente 76 % destinado ao mercado interno e 23% a exportações. Uma pesquisa realizada pelo Centro de Assessoria e Pesquisa de Mercado (CEAP) demonstrou que a maioria da população brasileira reconhece a carne suína como uma proteína saudável. Além dos fatores nutricionais,

o rigoroso controle sanitário empregado, atualmente, contribui para essa opinião dos consumidores (ABPA, 2021).

Tendo em vista que os produtos suínos têm apresentado uma alta demanda ao longo dos anos, as indústrias produtoras têm investido cada vez mais em novas tecnologias para agregar valor ao produto final (CASSENS, 2002). Dentre os desafios encontrados na cadeia produtiva, a conservação dos parâmetros de qualidade (maciez, suculência, cor e aroma) da carne após o abate é um desafio (PELOSO, 2006). Um dos métodos mais utilizados para preservação de produtos cárneos é o congelamento, pois esta técnica

permite armazenar o produto por um longo período sem que haja perdas significativas de sua qualidade. O armazenamento de alimentos em baixas temperaturas reduz a taxa de desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deterioradores e diminui as atividades químicas e enzimáticas, aumentando assim a sua vida de prateleira (BRIDI et al., 2003). O congelamento proporciona uma ótima conservação da carne, porém estudos demonstram que a formação de cristais de gelo durante a aplicação desse método pode acarretar impactos negativos nos aspectos de qualidade da carne, podendo ocorrer perda de textura, alterações de cor e sabor e grande perda de água por cozimento e descongelamento (SEBRANEK, 1982).

De modo geral, o congelamento empregado em produtos cárneos é lento, facilitando assim a formação de grandes cristais de gelo, de modo que há danos acentuados às células do tecido. O rompimento da membrana celular causa perdas de água, desnaturação de proteínas, distorções das estruturas internas (JAMES; BROWN, 1992) e favorecimento da oxidação lipídica, graças ao maior contato entre o oxigênio, enzimas e substratos (ALI et al., 2015). Além disso, alterações na temperatura durante a estocagem favorecem a ocorrência desses danos celulares, visto que, após aumentar a temperatura do produto, pequenos cristais de gelo derretem e, quando a temperatura é novamente reduzida, essa água se une aos cristais que permaneceram, aumentando seu tamanho e causando maior agressão aos tecidos, sendo esse fenômeno denominado de recristalização do gelo (HUNG; ERICKSON, 1997). Nesse sentido, a aplicação de novas tecnologias que amenizem os impactos negativos do congelamento no produto final se faz necessária.

O emprego de compostos crioprotetores é uma alternativa interessante para proteção de tecidos. Crioprotetores, como proteínas, peptídeos, carboidratos e polifenóis, podem atuar

na formação dos cristais de gelo, evitando o fenômeno de recristalização, pois interagem com a água livre e ainda podem proteger os compostos presentes nos alimentos (ZHU et al., 2021). Estudos recentes têm demonstrado que o xilooligossacarídeo (XOS) é uma macromolécula que apresenta uma boa performance de criopreservação (ZHANG et al., 2020). O XOS é um polissacarídeo composto por monossacarídeos de xilose, comumente encontrados em materiais lignocelulósicos (GULLÓN et al., 2011). Para obter esse oligossacarídeo, são aplicados métodos químicos e hidrólise enzimática direta no substrato (AACHARY; PRAPULLA, 2011). Pesquisas demonstraram que esse carboidrato atua retardando a recristalização em tecido animal, pois consegue se ligar às proteínas musculares e capturar moléculas de água através de ligações de hidrogênio, reduzindo a desnaturação miofibrilar e o rompimento das estruturas devido à formação dos cristais de gelo (ZHANG et al., 2020). Além disso, os XOS também apresentam atividade prebiótica, pois são fibras que favorecem o crescimento de bactérias benéficas e protegem o trato gastrointestinal de microrganismos patogênicos, equilibrando assim a microbiota intestinal, além de exercer outras atividades biológicas (YAH et al., 2022).

O lombo é um corte suíno que apresenta pouca gordura, alto teor de umidade e proteínas. Sua composição rica em nutrientes faz com que esse alimento apresente uma alta perecibilidade, sendo indispensável o congelamento para sua preservação prolongada. Visando a reduzir os danos estruturais ocasionados pelo congelamento, pré-tratamentos são recomendados. Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi analisar o efeito da impregnação de XOS a vácuo na cor, textura e perda de fluidos de cubos suínos. Foram avaliadas diferentes concentrações de XOS, bem como a submissão das amostras a diferentes ciclos térmicos.

Material e Métodos

Material

Um pedaço de lombo suíno com pouca gordura foi obtido no comércio local de Lavras, Minas Gerais. O xilooligossacarídeo (> 95%) foi obtido da empresa Biotipo (Piracicaba, São Paulo). O ácido sulfúrico (> 95%), fenol e álcool isoamílico (> 95%) foram obtidos da Êxodo Científica (São Paulo, Brasil), e a xilose ($\geq 99\%$) foi adquirida da Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil).

Índice de recristalização

A atividade de inibição de recristalização foi determinada usando o método proposto por Wang e Damodaran (2009), com modificações. Cerca de 5 μL de solução de xilooligossacarídeo e 5 μL de álcool isoamílico foram colocados em uma lâmina de vidro e cobertos com uma lamínula de vidro. A lâmina foi congelada rapidamente a $-75\text{ }^\circ\text{C}$ em um *ultra freezer* (Coldlab, CL 120-86V, Brasil) por 5 minutos. A temperatura foi alterada entre $-75\text{ }^\circ\text{C}$ e $-18\text{ }^\circ\text{C}$, as lâminas foram mantidas por 5 minutos em cada temperatura, totalizando 15 minutos como 1 ciclo. Foram realizados 3 ciclos. Após incubação foi avaliado o tamanho dos cristais de gelo por uma objetiva (40x) de um microscópio óptico (Meiji ML 5000; Meiji Techno America, Santa Clara, EUA) acoplado à câmera de vídeo (Cole-Palmer 49901-35; Cole-Palmer, Vernon Hills, EUA). O *software* ImageJ (National Institutes of Health) foi usado no processamento das imagens. O tamanho dos cristais de gelo das diferentes soluções de xilooligossacarídeos (1,5; 3,0 e 4,5% m/v) antes e após os ciclos térmicos foi avaliado. Foram realizadas medições de 50 cristais de gelo, para cada tratamento.

Impregnação a vácuo de cubos suínos

Os cubos de lombo suíno foram cortados a partir da medição feita com régua, com dimensões 1,5x1,5x1,5 cm. Os cubos foram impregnados a vácuo, aplicando diferentes concentrações de xilooligossacarídeo (1,5; 3,0 e 4,5% m/v). O procedimento foi realizado em estufa a vácuo Precision Scientific Vacuum Oven 19 (Thermo Fisher Scientific, EUA), com pressão de 17 in Hg (57,57 kPa), à temperatura ambiente por 20 minutos, sendo que a cada 10 minutos o vácuo foi interrompido brevemente para aumentar a infiltração. Subsequentemente, as amostras sob pressão atmosférica ficaram em repouso por 10 minutos. Em seguida, elas foram inseridas em embalagens de polietileno e congeladas a $-75\text{ }^\circ\text{C}$ em Ultra freezer (modelo CL 120-86V). Foi utilizada uma proporção de 1:10 de massa de amostras por volume de solução. O procedimento foi realizado em 5 repetições para cada tratamento.

Análises de carboidratos e brix das soluções impregnantes

Objetivando avaliar a infusão de XOS, as soluções impregnantes antes e após o processo de impregnação foram submetidas à análise de sólidos solúveis com auxílio de um refratômetro portátil (modelo RHB32, Brasil) e carboidratos totais pelo método de fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). Para a análise de carboidratos totais foram adicionados a um tubo de ensaio 0,5 mL da solução impregnante, 0,5 mL de fenol (5% m/v) e 2,5 mL de ácido sulfúrico (95% m/v). As concentrações de XOS nas soluções antes e após a impregnação foram obtidas por uma curva padrão de xilose com concentrações variando entre 0 e 100 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2 = 0,985$). As variações desses parâmetros foram calculadas pela diferença entre a concentração final e inicial.

Viscosidade das soluções impregnantes

O comportamento reológico das soluções impregnantes antes e após o contato com os cubos suínos foi analisado em triplicatas a 25 °C. As viscosidades das soluções foram determinadas usando um viscosímetro rotacional de tubo concêntrico (Brookfield DVIII Ultra, Brookfield Engineering Laboratories, EUA). O Spindle SC4-18 foi usado em uma rampa crescente com taxa de deformação de 79,33 s⁻¹ a 269,41 s⁻¹. O modelo Newtoniano (Equação 1) foi ajustado aos dados de tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento para determinar o perfil de fluxo dos fluidos (STEFFE, 1996).

$$\sigma = \mu \dot{\gamma} \quad (1)$$

Em que σ é a tensão de cisalhamento (Pa), μ é a viscosidade (Pa s) e $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento (s⁻¹).

Flutuação da temperatura

As amostras com dimensões 1,5x1,5x1,5 cm embaladas e congeladas a -75 °C foram divididas em três lotes: o primeiro lote foi submetido a 0 ciclo de flutuação de temperatura; o segundo a 2 ciclos; e o terceiro a 4 ciclos. Um ciclo térmico consistiu em armazenar as amostras congeladas em um refrigerador a -18 °C por 3 horas e, em seguida, transferi-las para outro refrigerador a 4 °C por 1 hora. Após os ciclos térmicos, as amostras foram armazenadas a -18 °C para realização de análises posteriores.

Análises físico-químicas

Perda de água após descongelamento e cozimento

A perda de água por gotejamento foi avaliada relacionando a massa das amostras antes e após o descongelamento. Para isso, as amostras *in natura* e impregnadas/descongeladas foram pesadas em balança analítica (Shimadzu, ATX 224, Japão). O descongelamento das amostras foi realizado a 4 °C por 12 horas dentro das embalagens. O procedimento foi realizado em cinco cubos para cada tratamento. A perda de exsudado foi calculada pela Equação 2.

$$m_p(\%) = \frac{m_A - m_D}{m_A} \times 100 \quad (2)$$

Em que m_A (g) é a massa dos cubos suínos antes de congelar, m_D (g) é a massa dos cubos suínos após o descongelamento e m_p é a porcentagem de água perdida durante o descongelamento.

Seguindo a metodologia de Cheung, Liceaga e Li-Chan (2009), com algumas alterações, a perda de água por cozimento das amostras de cubos suínos foi analisada. As amostras de carne (~ 4 g) foram pesadas, colocadas em sacos plásticos e inseridas em banho-maria a 75 °C por 15 minutos. Em seguida, as amostras foram removidas do banho-maria e resfriadas em banho de gelo até atingirem a temperatura ambiente. As amostras foram retiradas das embalagens e secas em papel toalha, e a massa final das amostras de cubos suínos cozidos foi registrada, sendo a porcentagem de perda por cozimento obtida pela Equação 3. Foram realizadas cinco repetições da análise.

$$P_c(\%) = \frac{m_{cru} - m_{cozido}}{m_{cru}} \times 100 \quad (3)$$

Em que m_{cru} (g) é a massa de carne suína crua, m_{cozido} (g) é a massa da carne suína após o cozimento e P_c é a porcentagem perdida durante o cozimento.

Textura

O perfil de textura (TPA - *Texture profile analysis*) dos cubos suínos foi medido com um texturômetro Universal, modelo TA.XT2 (Texture Analyser, Stable Micro Systems), usando uma sonda cilíndrica (75 mm de diâmetro). Cada amostra foi analisada duas vezes com intervalo de 5 segundos entre as compressões. A velocidade de compressão das amostras foi de 1 mm s⁻¹, as amostras foram comprimidas 30% de sua altura inicial e os parâmetros dureza, elasticidade e coesividade foram obtidos. Para cada tratamento foram realizadas cinco repetições da análise.

Análise de cor

A coloração dos cubos suínos antes e após a impregnação foi realizada com um colorímetro CR-400 (Konica Minolta, Osaka, Japão), usando espaço de cor CIEL* a* b*, onde L* representa claridade e escuridão, a* indica cromaticidade verde (- a*) para o vermelho (+ a*) e b* representa cromaticidade do azul (- b*) ao amarelo (+ b*). Cada análise foi feita em quadruplicata, com três medidas em cada unidade amostral. A degradação da cor dos cubos suínos também foi avaliada por meio da diferença de cor total (ΔE), pela Equação 4.

$$\Delta E * = \sqrt{[(\Delta L *)^2 + (\Delta a *)^2 + (\Delta b *)^2]} \quad (4)$$

Análise estatística

As diferentes concentrações de XOS utilizadas na impregnação, juntamente com a aplicação de diferentes ciclos de flutuação de temperatura foram combinados em um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), conforme mostra a Tabela I. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de média Tukey ($p < 0,05$) para determinar se houve diferença estatística

significativa entre os tratamentos. O pacote estatístico SAS University Edition (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) foi usado para realizar essas análises, e os gráficos foram construídos usando o *software* SigmaPlot, versão 11 (Systat Software, Inc., San Jose, EUA).

Tabela I- Delineamento experimental combinando diferentes concentrações de XOS empregados nas soluções impregnantes e diferentes ciclos de flutuação de temperatura

Tratamentos	% XOS	Flutuação de temperatura (Ciclos)
1		0
2	1,5	2
3		4
4		0
5	3,0	2
6		4
7		0
8	4,5	2
9		4
10		0
11	0	2
12		4

Resultados e Discussões

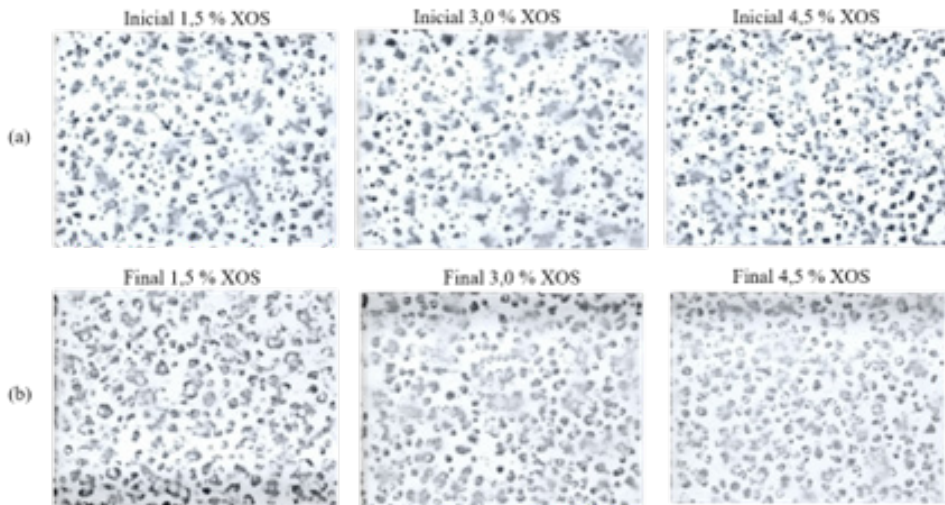
Caracterização das soluções impregnantes

Inibição do índice de recristalização das soluções impregnantes

As imagens de microscopia de luz polarizada obtidas nas lâminas contendo diferentes concentrações de XOS congeladas a -75 °C e submetidas a três ciclos térmicos oscilando a temperatura entre -75 °C e -18 °C estão apresentadas na Figura 1, a e b, respectivamente.

Com o auxílio do *software* ImageJ, foi possível medir os diâmetros dos cristais de

Figura 1 - Imagens de microscopia de luz polarizada (aumentadas de 400 x) das lâminas de solução de XOS: (a) antes dos ciclos térmicos, (b) e após os ciclos térmicos



gelo antes e após os ciclos de recristalização (Tabela II). Foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre as soluções apenas para diferentes concentrações de XOS, sendo que a solução contendo 1,5% de XOS apresentou cristais de gelo com maiores diâmetros, e para esse tratamento foram observados diâmetros médios de $0,0021 \pm 0,0005$ mm e $0,0022 \pm 0,0006$ mm, antes e após os ciclos térmicos, respectivamente.

Pela Tabela II pode-se observar uma redução progressiva do tamanho médio dos cris-

tais de gelo com o aumento da concentração de XOS. Embora para uma mesma concentração não foi visto diferença ($p < 0,05$) entre o tamanho dos cristais antes e após os ciclos térmicos, nota-se que maiores concentrações de XOS favoreceram a existência de cristais de gelo com menores dimensões. Isso ocorre porque ao submeter as lâminas com maiores teores de XOS aos ciclos térmicos, os pequenos cristais de gelo derretem e são impedidos de se unirem aos cristais ainda existentes, pois o XOS atua capturando essas moléculas

Tabela II - Tamanho médio dos cristais de gelo das soluções impregnantes antes e após o ciclo de recristalização

Amostras		Tamanho dos cristais (mm)
Antes dos ciclos de recristalização	1,5 % XOS	$0,0021 \pm 0,0005$ a
	3,0 % XOS	$0,0016 \pm 0,0004$ b
	4,5 % XOS	$0,0012 \pm 0,0003$ c
Após os ciclos de recristalização	1,5 % XOS	$0,0022 \pm 0,0006$ a
	3,0 % XOS	$0,0017 \pm 0,0004$ b
	4,5 % XOS	$0,0011 \pm 0,0003$ c

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

de água através de ligações de hidrogênio (ZHANG et al., 2020). Com esse comportamento, o XOS demonstrou ser um agente crioprotetor consistente que atuará inibindo a recristalização de gelo em alimentos, evitando assim os danos mecânicos ocasionados por esse mecanismo e, conseqüentemente, a perda de qualidade dos tecidos congelados.

Viscosidade, variação de sólidos solúveis e carboidratos totais das soluções impregnantes

O comportamento reológico das soluções impregnantes é um fator importante que exhibe influência direta sobre o processo de impregnação a vácuo, pois esse processo envolve o escoamento de fluido para o interior dos tecidos do alimento. O fluxo de líquidos pelos poros dos alimentos é reduzido quando se utilizam soluções com altas viscosidades (MERLIN, 2007). Logo, o uso de fluidos muito viscosos pode retardar o processo de impregnação.

As viscosidades médias das soluções antes e após a impregnação a vácuo foram medidas com um viscosímetro rotativo. A viscosidade e os parâmetros estatísticos observados para o ajuste ao modelo (Equação 1) são apresentados na Tabela III, e as curvas de fluxo das soluções são mostradas na Figura 2. Pela Figura 2 nota-se que as soluções

apresentaram perfil de um fluido newtoniano, os dados experimentais apresentaram bom ajuste a esse modelo com $R^2 \geq 0,984$, além de baixos valores da raiz quadrada do erro-médio (RMSE $\leq 0,0072$) (Tabela III). Houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre as viscosidades das soluções de XOS preparadas em diferentes concentrações, sendo que a viscosidade das soluções recém preparadas variou entre $1,03 \pm 0,01$ mPa s e $1,25 \pm 0,00$ mPa s. Notou-se um aumento progressivo desse parâmetro com o aumento da concentração de carboidrato na solução.

Com exceção da solução contendo 1,5% de XOS, houve uma redução das viscosidades das soluções após o processo de impregnação. Segundo Rao (1999) e Adorno (1997), a viscosidade diminui com menores concentrações de sólidos, devido ao menor atrito entre as moléculas e menores efeitos eletroviscosos gerados por interações moleculares. Esse resultado é um indicativo da aderência de XOS nas estruturas teciduais dos cubos suínos. O aumento da viscosidade na solução de 1,5% pode estar atrelado à saída de algum componente da carne para o meio impregnante após o processo de impregnação, gerando assim um aumento de concentração de sólidos na solução.

As curvas de fluxo, conforme mostra a Figura 2, descrevem perfil newtoniano das soluções impregnantes já que pode ser obser-

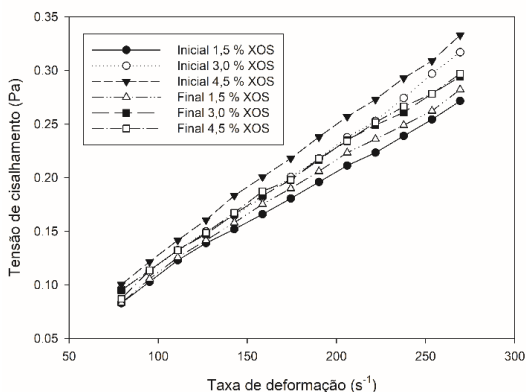
Tabela III - Parâmetros reológicos das soluções impregnantes

Solução impregnante	μ (mPa s)	RMSE	R^2
Inicial 1,5% XOS	$1,03 \pm 0,01^b$	0,0072	0,984
Inicial 3,0% XOS	$1,15 \pm 0,03^{ab}$	0,0053	0,994
Inicial 4,5% XOS	$1,25 \pm 0,00^a$	0,0055	0,993
Final 1,5% XOS	$1,08 \pm 0,02^b$	0,0027	0,988
Final 3,0% XOS	$1,13 \pm 0,02^b$	0,0066	0,988
Final 4,5% XOS	$1,14 \pm 0,02^{ab}$	0,0063	0,988

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

vada uma relação proporcional entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação. É evidente também que há uma ligeira redução das tensões de cisalhamento das soluções finais com 3,0% e 4,5% de XOS, comparadas com as respectivas soluções iniciais. Como a viscosidade é uma constante de proporcionalidade entre tensão de cisalhamento e taxa de deformação, foi visto também uma redução desse parâmetro para essas soluções (Tabela III). A viscosidade das soluções contendo 1,5% de XOS não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre si (Tabela III).

Figura 2 - Curva de fluxo das soluções impregnantes contendo XOS



A partir da Tabela IV, é possível observar a variação da concentração de XOS e sólidos

solúveis ($^{\circ}$ Brix) das soluções antes e após o processo de impregnação. Nota-se que a solução com 4,5% de XOS exibiu uma maior variação da concentração de XOS ($-5,596 \pm 0,286 \mu\text{g/mL}$), evidenciando que essa condição proporcionou uma maior impregnação desse crioprotetor, enquanto para a solução com 1,5% de XOS foi observada uma menor variação. Kunsler (2017), ao impregnar corte de morango com solução compostas por 100 g/L e 500 g/L de trealose, também observou melhor eficiência de impregnação ao empregar solução impregnante com maiores concentrações. Para os sólidos solúveis, nota-se que houve um ligeiro aumento de sólidos na solução de 1,5%, resultando em uma variação positiva desse parâmetro ($0,07 \pm 0,05$); esse resultado indica que algum componente da carne pode ter migrado para a solução impregnante sob essas condições.

Assim, acredita-se que dois mecanismos estejam envolvidos na transferência da solução para a fase líquida do tecido, sendo elas a transferência por difusão, devida à diferença de concentração do componente principal, e os mecanismos hidrodinâmicos, graças a ação de forças entre moléculas, que promove a entrada do composto em questão. Zhang (2020) cita que as moléculas de XOS no tecido animal interagem com as proteínas presentes no tecido muscular e com as moléculas de água presentes, favorecendo assim sua difusão no tecido.

Tabela IV - Variação da concentração de XOS e $^{\circ}$ Brix das soluções de XOS antes e após embeber os cubos suínos

Concentração de XOS	Variação da concentração de XOS ($\mu\text{g/mL}$)	Variação $^{\circ}$ Brix
1,5%	$-0,454 \pm 0,026^c$	$0,07 \pm 0,05^a$
3,0%	$-1,787 \pm 0,274^b$	$-1,16 \pm 0,12^b$
4,5%	$-5,596 \pm 0,286^a$	$-1,63 \pm 0,35^b$

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Caracterização dos tratamentos submetidos à flutuação de temperatura

Os cubos suínos pré-tratados, congelados e descongelados foram analisados quanto à perda de água após descongelamento (Δ) e por cozimento (ΔE), variação da coloração e textura, sendo medidas para esse parâmetro a dureza, a elasticidade e a coesividade.

Pela Tabela V, foi observado que a perda de água por cozimento foi menor nos tratamentos 5 e 8, que continham, respectivamente, as concentrações 3,0 e 4,5% de XOS. A condição isenta de pré-tratamento com XOS e submetida a 4 ciclos térmicos (Tratamento 12) foi o ensaio que apresentou maiores perdas de exsudado (8,81 ± 0,51%) e por cozimento (45,89 ± 5,22%).

A variação de massa após o processo de descongelamento é um parâmetro de grande relevância para validação da ação crioprotetora de um determinado composto, visto que a água perdida durante o descongelamento

prejudica a textura, a cor e o sabor do alimento. Foi possível observar que a impregnação de XOS nos tecidos cárneos reduziu a perda de água por cozimento e exsudação. Isso ocorre porque sacarídeos, como a trealose, oligossacarídeos de alginato e xilooligosacarídeo, atuam reduzindo o tamanho dos cristais de gelo formados e na preservação de macromoléculas biológicas, evitando que elas sofram mudanças conformacionais e consequente desnaturação quando expostas a baixas temperaturas (XIONG et al., 2009). Assim, as estruturas são preservadas e não há grandes perdas de fluidos.

Além disso, Tadanori et al. (2002) relatam que é possível obter ligações de hidrogênio entre os sacarídeos e os aminoácidos das proteínas, trazendo estabilidade no potencial eletrostático de superfície. Dessa forma, a proteína consegue ser flexível na ausência da água congelada, o que permite a permanência da proteína sem danos causados pelo congelamento.

As amostras não apresentaram diferença estatística (p < 0,05) para os parâmetros

Tabela V - Caracterização dos cubos suínos após impregnação com XOS congelamento/descongelamento

Tratamentos				Dureza (N)	Elasticidade (mm)	Coesividade
1	7,79 ± 1,05 ^{ab}	36,44 ± 1,34 ^{cd}	7,50 ± 2,33 ^c	342,66 ± 75,81 ^a	0,60 ± 0,03 ^a	0,66 ± 0,13 ^a
2	8,70 ± 0,27 ^a	35,43 ± 1,79 ^{cd}	3,13 ± 0,80 ^d	337,02 ± 29,99 ^{ab}	0,69 ± 0,05 ^a	0,60 ± 0,02 ^a
3	7,49 ± 0,44 ^{ab}	33,79 ± 4,78 ^{cd}	7,05 ± 1,03 ^c	297,68 ± 56,84 ^{abc}	0,65 ± 0,07 ^a	0,60 ± 0,02 ^a
4	7,47 ± 0,91 ^{ab}	32,78 ± 2,39 ^{cd}	10,82 ± 1,08 ^b	346,34 ± 80,47 ^a	0,64 ± 0,02 ^a	0,63 ± 0,01 ^a
5	7,00 ± 1,63 ^{ab}	29,39 ± 4,06 ^d	4,76 ± 1,82 ^{cd}	159,47 ± 81,87 ^{cd}	0,69 ± 0,02 ^a	0,60 ± 0,02 ^a
6	8,50 ± 1,32 ^{ab}	37,80 ± 1,03 ^{bc}	13,98 ± 0,74 ^a	244,54 ± 25,67 ^{abcd}	0,68 ± 0,08 ^a	0,60 ± 0,04 ^a
7	6,62 ± 0,84 ^{ab}	33,12 ± 2,31 ^{cd}	13,42 ± 1,04 ^{ab}	328,64 ± 43,97 ^{ab}	0,67 ± 0,18 ^a	0,64 ± 0,06 ^a
8	6,02 ± 0,63 ^b	29,60 ± 1,58 ^d	4,41 ± 1,18 ^{cd}	222,32 ± 50,50 ^{abcd}	0,71 ± 0,03 ^a	0,59 ± 0,04 ^a
9	7,10 ± 0,84 ^{ab}	36,82 ± 1,01 ^{bcd}	14,05 ± 0,39 ^a	164,70 ± 48,21 ^{cd}	0,68 ± 0,03 ^a	0,58 ± 0,02 ^a
10	6,59 ± 0,45 ^{ab}	30,52 ± 1,38 ^{cd}	3,71 ± 1,76 ^d	210,319 ± 10,12 ^{abcd}	0,67 ± 0,05 ^a	0,61 ± 0,03 ^a
11	7,63 ± 0,88 ^{ab}	44,17 ± 2,42 ^{ab}	3,92 ± 0,94 ^d	181,01 ± 58,76 ^{bcd}	0,65 ± 0,01 ^a	0,59 ± 0,05 ^a
12	8,81 ± 0,51 ^a	45,89 ± 5,22 ^a	5,82 ± 0,42 ^{cd}	133,78 ± 17,60 ^d	0,76 ± 0,07 ^a	0,57 ± 0,02 ^a

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

– Perda de fluidos celulares; – Perda de massa por cozimento; ΔE – Variação de cor total.

elasticidade e coesividade, entretanto, foi observada diferença ($p < 0,05$) para a variável dureza. A amostra sem pré-tratamento e submetida a mais ciclos térmicos (Tratamento 12) apresentou menor dureza ($133,78 \pm 17,60$ N), fato que pode ser atribuído a maior fragmentação das fibras musculares, devido à formação de grandes cristais de gelo (RODRIGUES, 2013). A menor dureza da carne pode contribuir aumentando a sua maciez, isso é uma característica interessante sensorialmente. Entretanto, a alta fragmentação de fibras pode ocasionar menor capacidade de retenção de água e, conseqüentemente, menor suculência da carne. Além disso, a redução da água intracelular pode ocasionar perda da maciez e aumento das resistências das fibras musculares (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Os XOS atuaram no tecido animal minimizando a degradação da estrutura proteica que compõe as fibras musculares e promove uma manutenção da textura da carne após os ciclos térmicos, sendo que com apenas 1,5% de XOS na solução impregnante já foram observados efeitos positivos expressivos na crioproteção desse alimento.

Com relação à variação de coloração das amostras de carne *in natura* e pré-tratadas descongeladas (Tabela V), verificou-se que as amostras tratadas com 3,0 e 4,5% de XOS e sujeitas a 4 ciclos térmicos apresentaram maior variação da coloração, sendo $13,98 \pm 0,74$ e $14,05 \pm 0,39$, respectivamente. Nota-se que a presença de maiores teores de XOS e a exposição dos cubos suínos a maiores números de ciclos térmicos promoveram maiores danos celulares ao tecido cárneo e contribuíram para a variação da coloração das amostras. A coloração da carne é atribuída à presença de pigmentos contendo o grupo heme; provavelmente, sobre as condições descritas, esses pigmentos se acumularam entre as fibras musculares, resultando em

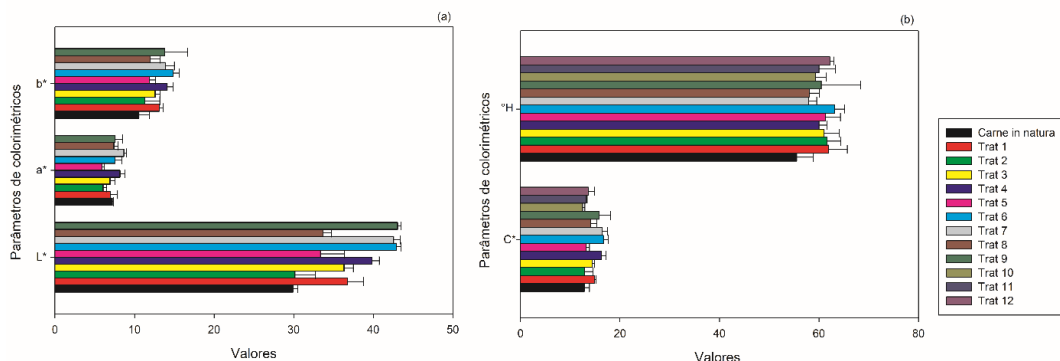
maiores variações da coloração (FRANCO, 2007).

Os parâmetros colorimétricos dos cubos suínos *in natura* e posterior à impregnação, congelamento e descongelamento de cada tratamento estão expostos na Figura 3. Observa-se que a carne suína *in natura* apresentou menor valor do parâmetro L^* (claridade), que está ligado à palidez do tecido. Isso pode ser atrelado aos danos causados às estruturas celulares nos cubos que passaram por ciclos térmicos, pois após o processo de descongelamento e aumento da presença de líquido intracelular na superfície muscular do tecido, devido à ruptura celular, é possível que ocorra maior birrefringência. Este fenômeno ocorre quando os raios luminosos incidentes não são absorvidos e sim refletidos para o meio externo, aumentando o indicador L^* (FRANCO, 2007). Também foi visto um ligeiro aumento dos valores para o eixo vermelho ($+ a^*$) para algumas amostras descongeladas, comparadas à amostra *in natura*. Como mencionado anteriormente, esse resultado pode ser associado ao acúmulo dos pigmentos, devido à ruptura celular.

Os principais pigmentos na carne associados à cor são a mioglobina, a hemoglobina e o citocromo C. Quanto maior a presença desses pigmentos heme, maior será a intensidade da cor vermelha na carne (RANKEN, 2000). Após descongelamento de uma peça cárnea, o contato do ar atmosférico com a superfície do tecido pode acarretar em uma reação de oxigenação, pela qual sítios livres da mioglobina irão se ligar ao oxigênio. Esse processo ocorre rapidamente e consegue elevar a coloração vermelha brilhante na carne trazendo o aspecto de carne fresca (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). As diferenças de coloração nas amostras impregnadas podem ser explicadas pela facilidade de penetração do oxigênio nos tecidos danificados pelo congelamento.

Através da Figura 4, é possível observar a coloração e o aspecto dos cubos suínos

Figura 3 - Parâmetros colorimétricos das amostras de cubos suínos após processo de impregnação congelamento e descongelamento



após descongelamento (Figura 4a) e após cozimento (Figura 4b). A coloração de carne fresca apresentada pelos cubos suínos após descongelamento está associada à oxigenação da mioglobina gerando o pigmento oximioglobina. Já a coloração acinzentada apresentada pelos cubos suínos após cozimento (75 °C) ocorre devido à formação do pigmento globina hemicromo. Este pigmento tem a parte proteica (globina) desnaturada e o ferro na forma oxidada (Fe³⁺). Outros fatores, como a caramelização de carboidratos e reação de Maillard, que geram pigmentos próprios como as melanoidinas, também contribuem para essa coloração (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013)

Além do potencial crioprotetor, os XOS são oligossacarídeos não digeríveis, ou seja, quando ingeridos eles não são digeridos e chegam ao intestino com sua estrutura inicial (SAMANTA et al., 2015). Experimentos *in vitro* demonstraram o potencial do XOS como agente prebiótico natural, já que influencia positivamente o desenvolvimento da microbiota intestinal. Finegold et al. (2014) realizaram um estudo para observar a ingestão de 1,4 g a 2,8 g diárias de XOS em adultos saudáveis e constataram aumento significativo na contagem das bactérias do gênero *Bifidobacterium* e ausência de efeito colateral, demonstrando assim a estimulação

Figura 4 - Cubos suínos impregnados com XOS após descongelamento (a) e cozimento (b)



que esse probiótico causa na microbiota benéfica presente no trato gastrointestinal humano. Moléculas de XOS são encontradas em tecido vegetal e não estão presentes em tecido animal, por isso sua aplicação em cubos suínos traria uma nova funcionalidade a esse produto, que é pobre em fibras, gerando funções nutricionais ainda melhores ao consumidor.

Conclusão

O presente trabalho apresentou uma pesquisa envolvendo a impregnação a vácuo de cubos suínos com xilooligossacarídeos, em diferentes concentrações para observar seu potencial crioprotetor nesse alimento. Pela análise de índice de recristalização, foi identificado que as soluções que continham maiores concentrações de XOS apresentaram cristais de gelo com menores diâmetros, evidenciando seu potencial inibidor de recristalização do gelo.

Ao avaliar as soluções impregnantes antes e após o processo de impregnação, foi observada aderência do XOS aos tecidos cárneos, pois foi vista redução da concentração de carboidratos totais, sólidos solúveis

e viscosidade das soluções após a etapa de impregnação. Notou-se que a solução com 4,5% de XOS exibiu uma maior variação da concentração de XOS ($-5,596 \pm 0,286 \mu\text{g/mL}$), ou seja, essa condição proporcionou uma maior impregnação desse crioprotetor, visto que houve maior redução da concentração desse carboidrato na solução final. Também os cubos suínos impregnados com solução de 4,5% de XOS apresentaram menores perdas de água por descongelamento e cozimento; os resultados sugeriram que a solução contendo essa concentração é ideal para criopreservar esse produto.

Assim, o XOS apresentou uma ação de criopreservação eficiente, pois as amostras impregnadas com maiores concentrações desse carboidrato exibiram menores perdas de água por cozimento e exsudação e maior dureza, indicando baixa ocorrência de danos mecânicos devido à formação dos cristais de gelo. Além de preservar as qualidades sensoriais da carne suína devido à ação protetora, o XOS ainda promove um enriquecimento nutricional desse alimento, já que se trata de um carboidrato não digerível que atua como prebióticos para os microrganismos benéficos que habitam o intestino humano.

REFERÊNCIAS

- AACHARY, A. A.; PRAPULLA, S. G. Xylooligosaccharides (XOS) as an Emerging Prebiotic: Microbial Synthesis, Utilization, Structural Characterization, Bioactive Properties, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 1, p. 2-16, 2011.
- ABPA. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório anual 2021**. Disponível em: https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf. Acesso em: abr. 2022.
- ADORNO, R.A.C. **Reologia de Sucos de Frutas Tropicais: Manga, Maracujá, Mamão e Goiaba**. Tese de Mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, 1997.
- ALI, S. et al. Effect of multiple freeze-thaw cycles on the quality of chicken breast meat. **Food Chemistry**, v. 173, p. 808-814, 2015.

- BRIDI, A. M. Efeito do genótipo Halatano e de diferentes sistemas de produção na qualidade da carne suína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, 2003.
- CASSENS, R. G. Historical and current aspects of pork meat quality in the USA. **Food Chemistry**, v. 69, p. 357-363, 2002.
- CHEUNG, I. W. Y.; LICEAGA, A. M.; LI-CHAN, E. C. Y. Pacific hake (*merluccius productus*) hydrolysates as cryoprotective agents in frozen pacific cod fillet mince. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 8, p. 588-594, 2009.
- DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- FINEGOLD, S. M. et al. Xylooligosaccharide increases bifidobacteria but not lactobacilli in human gut microbiota. **Food & Function**, n. 5, p. 436-445, 2014.
- FRANCO, F. O. **Efeito das variações térmicas na perda de umidade em carcaças de frango**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. Ciências dos Alimentos. São Paulo, 2007.
- FULLER, B. J. Cryoprotectants: the Essential Antifreezes To Protect Life in the Frozen State. **CryoLetters**, v. 25, n. 6, p. 375-388, 2004.
- GOMIDE, L. A. DE M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. **Ciência e Qualidade da Carne - Série Didática - Fundamentos**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2013. v. 1
- GULLÓN, P., González-Muñoz, M.J. & Parajó, J.C. Manufacture and prebiotic potential of oligosaccharides derived from industrial solid wastes. **Bioresource Technology**, 102, 6112-6119.2011.
- HUNG, Y. C.; ERICKSON, M. C. **Quality in Frozen Food**. Nova York: Chapman & Hall, 1997.
- VEGA, F. E. R.; MUÑOZ, S. S.; GONÇALVES, I. S.; HILARES, F. T.; BALBINO, T. R.; FORTE, M. B. S.; SILVA, S. S.; SANTOS, J. C.; HILARES, R. T. Carbohydrates valorization of Quinoa (*Chenopodium quinoa*) stalk in xylooligosaccharides and carotenoids as emergent biomolecules. **Industrial Crops and Products**, v.194, p.116274, 2023.
- JAMES, S. J. & BROWN, T. Process design data for pork chilling. **International Journal of Refrigeration**, v.15, n.7, p.281-289, 1992.
- KUNSLER, N. L. F., **Estudo da Impregnação a Vácuo de Trealose como Crioprotetor em Morangos**. Dissertação de Mestrado. Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Escola de Engenharia. Porto Alegre, RS. 2017.
- MERLIN, K. B. **Estudo Comparativo da Impregnação a Vácuo de Maçã (Var. Fuji), pêra (Var. D'Água e D'Anjou) e Manga (Var. Tommy Atkins)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Engenharia de Alimentos. Florianópolis, 2007.
- PELOSO, J.V. **Qualidade da carcaça e níveis de expressão dos genes FABP3 e FABP4 em suínos destinados à produção industrial de presuntos maturados**. Viçosa: MG, UFV, 2006. 104p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa. 2006.
- RANKEN, M. D. Handbook of meat product technology. Oxford: **Blackwell Science**, 2000. p. 212.
- RAO, M.A., Rheology of fluid and semisolid foods: principles and applications – **Food Engineering Series, 1a ed., Aspen Publishers, Inc.**, 1999.
- RODRIGUES, M. Z. **Impregnação a Vácuo de Micro-organismos Probióticos em Goiaba Minimamente Processada**. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 2013.
- SAMANTA, A.K.; JAYAPAL, N.; JAYARAM, C.; ROY, S.; KOLTE, A.P.; SENANI, S. Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural by-products: Production and applications.

Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, v. 5, p. 62-71, 2015. DOI 10.1016/j.bcdf.2014.12.003.

SEBRANEK, J. G. Use of cryogenics for muscle foods. **Brazilian Food Technology**, v. 36, p.121-127, 1982.

STEFFE, J. F. **Rheological methods in food process engineering**. 2. ed. Michigan: Freeman Press, 1996.

TADANORI, S., TAKEHIKO, G., YOSHIYASU, A. Growth rate and morphology of ice crystals growing in a solution of trehalose and water. **Journal of Crystal Growth**, v. 240, p. 218-229, 2002.

WANG, S.; DAMODARAN, S. Ice-structuring peptides derived from bovine collagen. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 12, p. 5501-5509, 2009.

XIONG, G., Cheng, W., Ye, L., Du, X., Zhou, M., Lin, R., et al. Effects of konjac glucomannan on physicochemical properties of myofibrillar protein and surimi gels from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Food Chemistry**, v. 116, n. 2, 413-418. 2009.

YAH, F.; TIAN, S.; CHEN, H.; GAO, S.; DONG, X.; DU, K. Advances in xylooligosaccharides from grain byproducts: Extraction and prebiotic effects. **Grain & Oil Science and Technology**, v. 5, p. 98-106, 2022.

ZHANG, B.; CAO, H. J.; WEI, W. Y.; YING, X. G. Influence of temperature fluctuations on growth and recrystallization of ice crystals in frozen peeled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) pre-soaked with carrageenan oligosaccharide and xylooligosaccharide. **Journal Food Chemistry**, p. 306, 2020.

ZHU S.; YU, J.; CHEN, X.; ZHANG, Q.; CAI, X.; DING, Y.; ZHOU, X.; WANG, S. Dual cryoprotective strategies for ice-binding and stabilizing of frozen seafood: A review. **Trends in food science and technology**, v. 111, p. 223-232.

