



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JULIANA NUNES DE ALMEIDA

Filés PSE (*Pale, Soft, Exudative*) e PFN (*Pale, Firm, Non-Exudative*) de Frango:
Caracterização Bioquímica, Enzimas Antioxidantes e
Influência no Processamento

JULIANA NUNES DE ALMEIDA

Filés PSE (*Pale, Soft, Exudative*) e PFN (*Pale, Firm, Non-Exudative*) de Frango:

**Caracterização Bioquímica, Enzimas Antioxidantes e
Influência no Processamento**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Doutorado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Adriana Lourenço
Soares Russo

Londrina
2017

JULIANA NUNES DE ALMEIDA

FILÉS PSE (*PALE, SOFT, EXU*)
CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA, ENZIMAS ANTIOXIDANTES E
INFLUÊNCIA NO PROCESSAMENTO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Doutorado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof^a Dr^a Adriana Lourenço Soares
Russo
Universidade Estadual de Londrina -UEL

Prof^a Dr^a Cristiane Canan
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPr

Prof Dr. Denis Fabrício Marchi
Instituto Federal do Paraná - IFP

Prof^a Dr^a Mayka Reghiany Pedrão
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPr

Prof^a Dr^a Sandra Helena Prudencio
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 30 de outubro de 2017.

Dedico este trabalho aos meus pais, João Batista (in memoriam) e Maria de Lourdes. Ele que não pode me acompanhar nesta caminhada, mas sempre apoiou minhas escolhas, à minha mãe pelo exemplo de mulher e dedicação. Às minhas irmãs Mayara e Maria Helena, companheiras e sempre preocupadas comigo. Ao meu namorado Denis, pelo companheirismo, paciência e dedicação em todos esses anos. A todos pela paciência, apoio e compreensão pelas minhas ausências.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof.^a Dra. Adriana Lourenço Soares Russo, pelos ensinamentos, paciência, amizade, conselhos, dedicada orientação, por estar sempre acessível e sempre preocupada em ajudar de todas as formas possíveis, não somente em assuntos relacionados à vida acadêmica, mas pessoais também.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa e auxílio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

À Fundação Araucária pela concessão da bolsa e auxílio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

À Moisés Grespan representando o frigorífico que possibilitou a condução do trabalho com doação das amostras.

À Professora Margarida M. Yamaguchi pelos ensinamentos que contribuíram para a elaboração de um dos produtos desenvolvidos nesse trabalho.

Aos colegas de pesquisa, em especial a Talita Kato, pela parceria nas viagens aos Frigoríficos, nas contribuições para o desenvolvimento das análises, nos ensinamentos e paciência para ouvir meus desabafos, e não menos importante, na parceria nas idas ao Gelobel, para tomar chopp e comer costela.

Às alunas de Iniciação Científica Thaís, Verena e Eloá pelo auxílio destinado à elaboração deste trabalho.

Um agradecimento especial a Fernanda Mendonça, que me acompanhou desde o Mestrado, por toda ajuda e parceria nas longas horas de trabalho no laboratório, pela dedicação, ensinamentos, pela amizade sincera e longas conversas. Agradeço também a Bel (mãe da Fer), pelas marmitas enviadas e as jantas depois de longa jornada de trabalho e por me recepcionar em sua casa.

À Mônica Oliveira Reis, pela amizade construída ao longo desses anos, pela parceria nos estudos para concursos, regados a muita água com limão, gengibre e hortelã, e que com certeza valeram a pena e hoje colhemos os frutos.

Aos colegas de laboratório, em especial a Ana Paula, Rosana, Natália Bom, Cintia Handa, Lívia, Adriana, Marcela Terhag, Daniele Honorato, Fernando, Daneysa, Marcela Guelfi, Bruna Yoshida, Bruna Boger, Dafne e todos que passaram por esse laboratório, pela convivência, amizade e parceria.

Aos Funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos desta instituição, em especial à Patrícia, Alessandra e Sandra Rezende, pela ajuda e atenção sempre dispensadas.

A Deus, pela vida e por todos os momentos dela, inclusive os mais difíceis.

ALMEIDA, Juliana Nunes de. **Filés PSE (*pale, soft, exudative*) e PFN (*pale, firm, non-exudative*) de frango: caracterização bioquímica, enzimas antioxidantes e influência no processamento.** 2017. 82 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) -Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

Anormalidades na coloração de carnes de frango tem sido relatadas nas indústrias avícolas e ocasionam alteração na qualidade das carnes, entre estas destacam-se as carnes PSE (*pale, soft, exudative*) e PFN (*pale, firm, non-exudative*). Objetivou-se com esse estudo, investigar a incidência de filés de frango com características PFN, suas características bioquímicas, antioxidantes enzimáticos e influência no processamento de produtos cárneos. Utilizaram-se filés de frango (*Pectoralis major m.*) de uma linha comercial de abate. Os filés foram classificados em 3 categorias: PSE ($\text{pH} \leq 5.8$, $L^* \geq 53.0$), PFN ($\text{pH} > 5.8$, $L^* \geq 53.0$) e Normal ($\text{pH} > 5.8$, $L^* < 53.0$). Foram analisados pH2h, pH24h, cor, incidência de carnes PSE, PFN, Capacidade de Retenção de Água (CRA), força de cisalhamento, oxidação lipídica, atividade das enzimas antioxidantes e perfil de ácidos graxos. As amostras PFN apresentaram maiores valores de CRA e menores valores de perda por gotejamento. Carnes PSE apresentaram-se 56% mais oxidadas do que amostras PFN e Normal. A atividade da superóxido dismutase foi menor para carnes PSE do que para carnes PFN e Normal. As atividades da catalase e glutathione peroxidase não diferiram entre os três grupos. As carnes PSE apresentaram maior teor de ácidos graxos saturados e menor de ácidos graxos $\omega 6$. Carne PFN é uma nova categoria de qualidade que apresenta características diferentes das carnes PSE. Os produtos à base de peito de frango, elaborados com carnes PSE, PFN e Normal, utilizando fumaça líquida foram preparados com injeção de 20% de salmoura seguido de tampleamento, cura e cocção e foram avaliados quanto a composição proximal, cor, atividade de água, oxidação lipídica, perfil de textura e análise sensorial. Os produtos processados com carnes PSE apresentaram menor umidade quando comparado com as amostras Normal e PFN. A oxidação lipídica não diferiu entre os três produtos. Os produtos elaborados com carne PFN foram mais afetados nas propriedades mecânicas, principalmente dureza e mastigabilidade, corroborando com os resultados da análise sensorial. Embora carnes PFN e PSE apresentem anormalidades de coloração e filés PSE tem as propriedades funcionais comprometidas é viável utiliza-los para elaboração de produtos com peito de frango com qualidade similar a carnes Normais. Hambúrgueres foram elaborados com carnes PSE e PFN e foram avaliados com relação a composição química, cor, atividade de água, oxidação lipídica, força de cisalhamento e análise sensorial. Os hambúrgueres elaborados com carne PSE apresentou maior valor de proteína do que o hambúrguer com carne PFN. O conteúdo de umidade, gordura e cinzas não diferiu entre as duas amostras. O hambúrguer elaborado com carne PFN apresentou-se mais pálido, mais duro e com menor valor de rendimento após cocção, mas estas características não interferiram no teste de intenção de compra pelos avaliadores.

Palavras-chave Textura. Oxidação lipídica. Produtos cárneos. Hambúrguer

ALMEIDA, Juliana Nunes de. **PSE (pale, soft, exudative) and PFN (pale, firm, non-exudative) fillets in chicken: biochemical characterization, antioxidant enzymes and influence on processing.** 2017. 82 p. Thesis (Doctorate in Food Science) – State University of Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

Color abnormalities have been reported in the poultry industry and cause changes in meat quality among these point out PSE (pale, soft, exudative) meat and PFN (pale, firm, non-exudative) meat. The objective of this work was to investigate the incidence of PFN meat and their biochemical characteristics, antioxidants enzymes and it influence on meat product processing. Chicken meat fillets (*Pectoralis major m.*) of processing slaughter line were used. Breast meat from a commercial plant were classified into three categories: PSE (pH \leq 5.8, L* \geq 53.0), PFN (pH $>$ 5.8, L* \geq 53.0) and Normal (pH $>$ 5.8, L* $<$ 53.0). Was analyzed pH2h, pH24h, color, incidence of meat PSE and PFN, water holding capacity (WHC), shear force, lipid oxidized, antioxidant enzymes and fatty acid profile. The PFN samples presented higher water holding capacity values and lower drip loss values when compared to PSE samples. The PSE meat presented 56% more lipid oxidized than PFN and Normal meat. The superoxide dismutase activity was lower in PSE meat than PFN and Normal samples. The catalase and glutathione peroxidase did not differ among three groups. The PSE meat presented higher percentage of saturated fatty acid and lower percentage of ω 6 fatty acid. PFN meat is a new quality category of broiler breast meat that features different characteristics of PSE meat. The chicken breast products, prepared with PSE, PFN and Normal meats, using liquid smoke were prepared with 20% of brine injection, following tumbled, cured and cooked and were evaluated for the proximal composition, color, water activity, lipid oxidation, texture profile and sensory analysis. The products processed with PSE meat presented lower moisture when compared to PFN and Normal samples. The lipid oxidation did not differ among three groups. The products elaborated with PFN meat were most affected for mechanical properties mainly for hardness and chewiness corroborating with results of the sensory analysis. Although the PFN and PSE meat presented color abnormality and PSE fillets had the functional properties committed, it is feasible to use them for elaborate products with chicken breast meat with quality similar to normal meat. The hamburgers were elaborated with PSE and PFN breast meat and were evaluated by chemical composition, color, water activity, lipid oxidation, shear force and sensorial analysis. The hamburgers elaborated with PSE meat presented higher values of protein than hamburgers of PFN meat. The content of moisture, fat and ash did not differ between two samples. The hamburgers elaborated with PFN breast meat presented paler, harder and with low yield cooking values but these characteristics did not interfere in the purchase intention test by assessors.

Key words: Texture. Lipid oxidation. Meat products. Hamburger.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1: PFN (pale, firm and non-exudative) a new category broiler breast meat: antioxidant enzymes, biochemical parameters and comparison to PSE (pale, soft, exudative) meat

Table 1. Measurements of pH, color, Water-Holding Capacity (WHC), drip loss and texture in PFN, PSE and Normal broiler breast meat samples 56

Table 2. Lipid oxidation and the antioxidant enzymes in PFN, PSE and Normal broiler breast meat samples 56

Table 3. Fatty acid composition for PFN, PSE and Normal broiler breast meat samples 57

ARTIGO 2: Development of meat product based on chicken breast with liquid smoke using PSE (pale, soft, exudative) and PFN (pale, firm and non-exudative) breast meat

Table 1 Means values of L*, a*, b* and pH in PSE, PFN and Normal breast meat fillets..... 62

Table 2. Proximate composition of product elaborated with chicken breast Normal, PSE and PFN 63

Table 3. Values of color, Aw and lipid oxidation of products elaborated with chicken breast Normal, PSE and PFN stored at 4 °C for 2, 30 and 60 days 63

Table 4. Mechanical properties of products elaborated with chicken breast Normal, PSE and PFN stored at 4 °C for 2, 30 and 60 days 64

ARTIGO 3: Development and evaluation of hamburger prepared with liquid smoked using PSE (pale, soft, exudative) and PFN (pale, firm and non-exudative) broiler breast meat

Table 1: Means values of L*, a*, b* and pH in PSE and PFN breast meat fillets 71

Table 2: Proximate composition of hamburgers chicken of PSE and PFN meat 72

Table 3: Values of color, pH and lipid oxidation of PSE and PFN hamburgers chicken stored at 4°C for 2, 15, 30, 45 and 60 days 72

Table 4: Values of water activity (Aw), shear force (SF), water-holding capacity (WHC), cooking yield (CY) and dimensional shrinkage (DS) of PSE and PFN hamburgers chicken stored at 4°C for 2, 15, 30, 45 and 60 days 73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP - Adenosina difosfato
APINCO - Associação Brasileira de Produtores de Pinto de Corte
Ca²⁺ - Íon cálcio
CK – Creatina fosfato
CRA - Capacidade de retenção de água
CAT - Catalase
DFD - *Dark, Firm, Dry*
ERO - Espécies reativas do oxigênio
GSH-Px - Glutathione peroxidase
GSH – Glutathione Oxidada
GSSG - Glutathione dissulfeto
HClO - Ácido hipocloroso
H₂O₂ – Peróxido de Hidrogênio
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
NADH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
O – Oxigênio
O₂ – Oxigênio Molecular
O₂⁻ - Radical Superóxido
O₂¹ – Oxigênio *Singlet*
OH· - Radical Hidroxila
PLA₂ – Fosfolipase A₂
PFN - *Pale, Firm, Non-exsudative*
PSE - *Pale, Soft e Exudative*
RFN - *Red, Firm, Non-exudative*
RSE - *Red, Soft, Exudative*
RL - Radical livre
RO· - Radicais alcoxila
ROO· – Radical peroxila
SOD - Superóxido dismutase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	16
2.1	GERAL	16
2.2	ESPECÍFICOS.....	16
3	DESENVOLVIMENTO	17
3.1	ESTRUTURA MUSCULAR	17
3.1.1	TransformaçãodoMúsculoemCarne	19
3.2	QUALIDADE DA CARNE	21
3.2.1	Capacidade de Retenção de Água	21
3.2.2	Alterações de Qualidade da Carne Suína.....	22
3.2.3	PSE em Carne de Aves	24
3.3	RADICAIS LIVRES E ESPÉCIES REATIVAS AO OXIGÊNIO	27
3.3.1	Oxidação Lipídica	28
3.3.2	Antioxidantes Enzimáticos	30
3.3.2.1	Glutationa peroxidase (GSH-Px)	31
3.3.2.2	Superóxido dismutase (SOD)	32
3.3.2.3	Catalase (CAT)	33
3.4	PRODUTOS CÁRNEOS E TECNOLOGIA.....	33
3.4.1	Defumação	36
4	REFERÊNCIAS	38
5	RESULTADOS	45
5.1	ARTIGO CIENTÍFICO 1	46
5.2	ARTIGO CIENTÍFICO 2	58
5.3	ARTIGO CIENTÍFICO 3.....	67
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
7	ANEXOS	78
	ANEXO 1	79
	ANEXO 2	80

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	16
2.1 GERAL	16
2.2 ESPECÍFICOS	16
3 DESENVOLVIMENTO	17
3.1 ESTRUTURA MUSCULAR	17
3.1.1 Transformação do Músculo em Carne	19
3.2 QUALIDADE DA CARNE	21
3.2.1 Capacidade de Retenção de Água	21
3.2.2 Alterações de Qualidade da Carne Suína	22
3.2.3 PSE em Carne de Aves	24
3.3 RADICAIS LIVRES E ESPÉCIES REATIVAS AO OXIGÊNIO	27
3.3.1 Oxidação Lipídica	28
3.3.2 Antioxidantes Enzimáticos	30
3.3.2.1 Glutathione peroxidase (GSH-Px)	31
3.3.2.2 Superóxido dismutase (SOD)	32
3.3.2.3 Catalase (CAT)	33
3.4 PRODUTOS CÁRNEOS E TECNOLOGIA	33
3.4.1 Defumação	36
4 REFERÊNCIAS	38
5 RESULTADOS	45
5.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1	46
5.2 ARTIGO CIENTÍFICO 2	58
5.3 ARTIGO CIENTÍFICO 3	67
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
7 ANEXOS	78
ANEXO 1	79
ANEXO 2	80

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, a produção de frango modernizou-se e continua a buscar formas de melhorar ainda mais seu desempenho produtivo. Com isso o setor avícola acabou se destacando em nível nacional e internacional, resultando em maior produtividade, volume de abate, melhor desempenho econômico, além de contribuir com a economia do país (GIROTTI, 2014).

Nas últimas décadas, a avicultura brasileira tem apresentado altos índices de crescimento, onde a carne de frango é o principal produto, sendo que o consumo *per capita* em 2016 foi de 41,10 kg/habitante (ABPA, 2017). A produção nacional conquistou os mais exigentes mercados e tornou-se o segundo maior produtor mundial com produção de 13.605 milhões de toneladas de carne de frango em 2016 e líder em exportação com a carne nacional chegando a 142 países (USDA, 2017). Outras aves, como peru e avestruz, também têm se destacado nos últimos anos, contribuindo para diversificar a pauta de exportação do agronegócio brasileiro (MAPA, 2014).

Dentre os estados produtores de carne de frango, o Paraná se destaca como o maior, além de ser referência para o cálculo da produção nacional. Dados do IBGE (2016), mostram que o estado se isola cada vez mais como líder na produção de carne de frango com 4.110 mil toneladas, que corresponde a 31,02 % dos abates realizados no país sob algum tipo de inspeção. A região Sul foi responsável por aproximadamente 60 % da produção em 2016, com Santa Catarina produzindo 16,01 % e Rio Grande do Sul 12,21% (AVISITE, 2017).

Com a elevação da produção avícola, aumenta a preocupação em produzir carne e produtos processados de qualidade. Nas gôndolas dos supermercados os atributos mais avaliados pelo consumidor são a cor, aparência, textura e odor que estão relacionados às propriedades sensoriais e funcionais (SIMÕES et al., 2009). Porém, outros fatores também podem afetar a qualidade da carne durante o armazenamento.

Juntamente com os problemas citados, ainda há a questão da carne PSE (*Pale, Soft e Exudative*), resultado do estresse *ante-mortem*, que é caracterizada por uma carne de cor pálida, flácida e exudativa na superfície, reflexo da acidez muscular, que compromete a qualidade funcional das matérias-primas, em face da desnaturação das proteínas miofibrilares, prejudicando o rendimento industrial, a qualidade final e o desempenho econômico dos produtos (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2006a).

Nas carnes PSE a excessiva concentração de Ca^{2+} no citoplasma promove a ativação da enzima fosfolipase A_2 (PLA_2) (SOARES et al., 2003b), que quando ativada pelo Ca^{2+} hidrolisa os fosfolipídios da membrana, liberando ácidos graxos insaturados de cadeia longa que induzem o retículo sarcoplasmático a liberar mais Ca^{2+} ocasionando, então, a perda de controle da glicólise e a elevada formação de ácido lático (CHEAH; CHEAH, 1981). A enzima PLA_2 atua sobre os fosfolipídios da membrana celular liberando ácido araquidônico (MURKAMI; KUDO, 2002), promovendo maior oxidação lipídica das carnes.

O estresse oxidativo é resultado de uma redução nos níveis das enzimas antioxidantes e elevada produção de espécies reativas ao oxigênio, ou combinação de ambas. Essas alterações facilitam a ocorrência de oxidação lipídica, que em carnes é a principal causa da perda da qualidade durante armazenamento, os radicais livres gerados na reação podem levar a alterações na textura, sabor, cor, oxidação de proteínas e perda do valor nutritivo (SOARES et al., 2004).

Em carnes suínas, a classificação de qualidade da carne é dividida em cinco categorias: RFN (*reddish-pink, firm, non-exudative*), PSE (*pale, soft, exudative*), DFD (*dark, firm, dry*), RSE (*red, soft, exudative*) e PFN (*pale, firm, non-exudative*) (CASSENS et al., 1992; VAN LAACK et al., 1994) de acordo com os parâmetros de cor (L^*) e de capacidade de retenção de água.

Nos últimos anos, tem se observado que os filés de frango se apresentam mais pálidos, com valores de L^* altos e nem sempre apresentam pH alterado, característico de carne PSE ou apresentam pH alterado e valores de L^* correspondente a carnes classificadas como normais.

Kaminishikawahara et al. (2016), avaliaram as características bioquímicas, enzimáticas e estruturais de filés de frango PSE e pálidos com pH normal. Os autores classificaram os filés de frango em três classes baseados nos valores de pH e L^* , sendo, PSE (com $\text{pH} \leq 5,80$ e $L^* \geq 53,00$), Pálido (com $\text{pH} > 5,80$ e $L^* \geq 53,00$) e Normal (com $\text{pH} > 5,80$ e $L^* < 53,00$), obtendo uma incidência de 9,1 % de filés PSE, 85,7 % de filés pálidos e 5,2% de filés normais. Dentro dos parâmetros avaliados, a carne Pálida diferiu ($p \leq 0,05$) da carne PSE, em relação ao pH, L^* , b^* , % CRA, diâmetro da fibra (μm) e textura *in natura*, concluindo assim, que filés de frango pálidos apresentaram características bioquímicas e estruturais diferentes dos filés PSE, sugerindo uma nova categoria de qualidade de carne a PFN.

Carnes PSE por terem suas propriedades funcionais comprometidas, com capacidade de retenção de água inferior e cor mais pálida, comprometem a textura, coesividade, coloração e rendimento de produtos cárneos (OLIVO, 2006a). Kissel et al. (2009) elaboraram mortadela de frango com carnes PSE e propuseram a utilização de aditivos para obtenção de melhor estabilidade de emulsão e capacidade de retenção de água desses produtos. Honorato (2012), avaliou o efeito da adição de hidrocolóides nas propriedades funcionais de nuggets e marinados preparados com carnes PSE de frango observando melhorias nas propriedades funcionais desses produtos. Entretanto, ainda não há na literatura estudos utilizando carnes PFN na elaboração de produtos cárneos, não sendo possível no momento identificar sua influência no processamento.

Sendo assim, torna-se importante investigar a incidência de filés de frango com características PFN (*pale, firme, non-exudative*), suas características bioquímicas, enzimas antioxidantes e influência no processamento de produtos cárneos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Investigar a incidência de filés de frango com características PFN (*pale, firme, non-exudative*), suas características bioquímicas, enzimas antioxidantes e influências no processamento.

2.2 ESPECÍFICOS

- Verificar a incidência de filés de frango PSE, PFN e Normais em uma linha comercial de abate;

- Avaliar cor, pH e capacidade de retenção de água em carnes PSE, PFN e Normais;

- Investigar o comportamento das enzimas antioxidantes: Glutathione peroxidase (GSH-Px), Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD) em filés PSE, PFN e Normais;

- Avaliar a oxidação lipídica e perfil de ácidos graxos em filés PSE, PFN e Normais;

- Investigar as influências dos filés de frango PSE e PFN no processamento de produtos cárneos a base de peito de frango utilizando fumaça líquida e hambúrguer de frango.

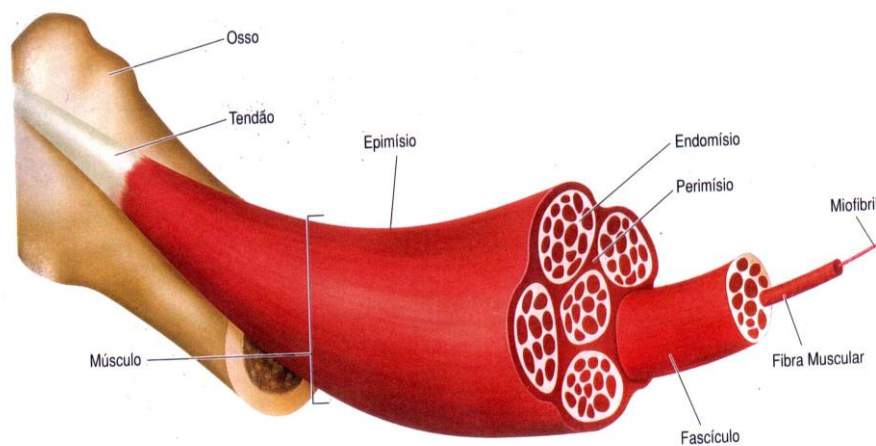
- Avaliar sensorialmente as influências dos filés PSE e PFN nos produtos elaborados e a aceitação dos mesmos.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 ESTRUTURA MUSCULAR

O tecido muscular esquelético representa aproximadamente de 35 a 65% do peso das carcaças. O músculo esquelético é formado por feixes de fibras que se apresentam no formato de células longas, cilíndricas e multinucleadas, chamadas de miofibras, que estão envolvidas pelo tecido conjuntivo, composto principalmente por colágeno, do epimísio partem septos muito finos de tecido conjuntivo, que se dirigem para o interior do músculo, dividindo-se em feixes ou fascículos, estes por sua vez são conhecidos como perimísio e cada fibra muscular é envolvida por uma camada muito fina de fibras reticulares, formando o endomísio (STRASBURG, XIONG, CHIANG, 2010; ORDOÑES et al., 2005). A **Figura 1** representa a estrutura do músculo esquelético.

Figura 1 - Estrutura do músculo esquelético.

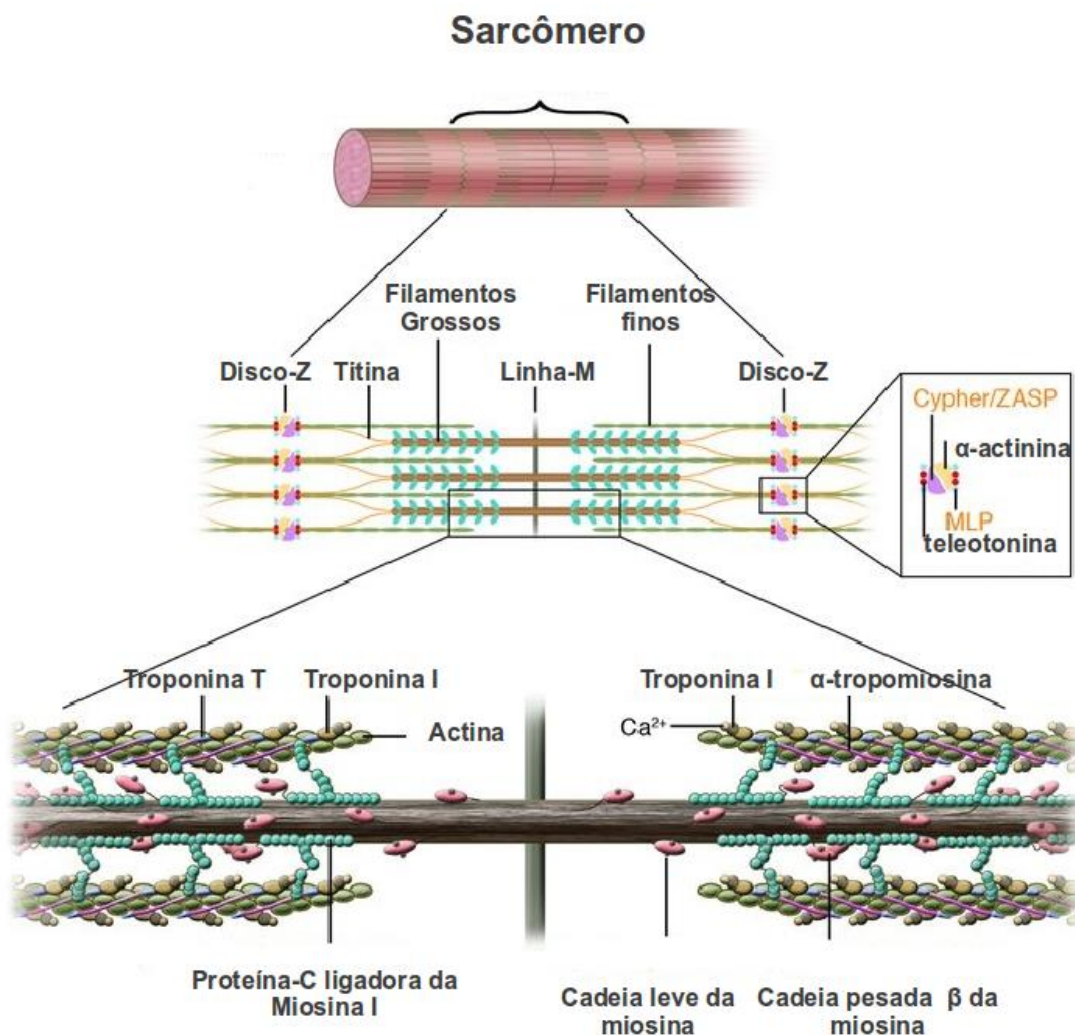


FONTE: BAYNES; DOMINICZACK (2000).

A fibra muscular é envolvida por uma membrana lipoproteica denominada sarcolema, e seu citoplasma está preenchido principalmente por fibras paralelas, denominadas miofibrilas, responsáveis pela aparência estriada do músculo esquelético. As miofibrilas apresentam diâmetro de 1 a 2 μm e correm longitudinalmente à fibra muscular. São constituídas por dois filamentos formados por proteínas contráteis: filamentos delgados (contém actina) e filamentos grossos (contém miosina). Esses filamentos constituem o sarcômero, unidade contrátil do músculo esquelético que se repete ao longo das miofibrilas.

Em seu interior, podem ser observadas várias bandas, conhecidas como banda A, I e Z. A banda I é formada pela actina, troponina e tropomiosina. No centro da banda I, uma linha transversal escura corresponde a linha Z. A banda A é formada por filamentos grossos, constituídos por miosina e titina, em seu centro existe uma zona mais clara, denominada banda H, que tem como principal componente a enzima creatina quinase, e localizada no centro da banda H, está a linha M (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; ORDOÑES et al., 2005), na **Figura 2** a seguir, pode-se visualizar o esquema de um sarcômero.

Figura 2 - Esquema representativo de um sarcômero.



FONTE: MORITA et al. (2005).

As fibras musculares estão divididas em três tipos: brancas vermelhas e intermediárias. A maior parte dos músculos é composto dos três tipos de fibras. As fibras vermelhas apresentam contração lenta e tônica, enquanto as brancas, rápida e fásica. Devido a

isso, as fibras vermelhas fatigam-se menos desde que disponham de oxigênio, enquanto as brancas fatigam-se com facilidade (ORDOÑES et al., 2005).

Dos componentes presentes na carne, as proteínas são as mais abundantes, superadas apenas pela água (65-80%). Nos animais de abate, as proteínas são muito similares, podendo ser classificadas em: proteínas sarcoplasmáticas, miofibrilares e insolúveis (ORDOÑES et al., 2005).

As proteínas sarcoplasmáticas são solúveis em água e tampões de pouca força iônica, representando cerca de 30 a 35% do total de proteínas. Esse grupo é composto pelas enzimas e substâncias responsáveis pela cor da carne, como a mioglobina e hemoglobina. As proteínas miofibrilares são as mais abundantes, constituindo de 65 a 75% das proteínas musculares. Nesse grupo estão as proteínas associadas aos filamentos grossos e delgados, com destaque a actina e miosina, que quando associadas se apresentam como actomiosina, em menor quantidade nesse grupo encontram-se a tropomiosina, troponina, actininas, proteínas C e M, todas são de grande importância nas transformações bioquímicas *post mortem* (ORDOÑES et al., 2005).

No processo de contração muscular, a cabeça da miosina se liga a uma molécula de actina G do filamento de actina. A formação de ponte mediante à interação entre a actina e a miosina origina o complexo químico conhecido como actomiosina. A formação da actomiosina resulta em um estado de rigidez e de relativa inextensibilidade muscular. A actomiosina constitui a maior parte das proteínas miofibrilares encontradas no músculo *post-mortem* e a rigidez que se origina após a morte do animal (*rigor mortis*) se deve em grande parte a este complexo. No animal vivo, é um composto transitório, dado que as pontes que se formam entre os filamentos de actina e de miosina se rompem durante a fase de relaxamento do ciclo de contração. Quando o músculo está em repouso, praticamente não existem pontes (FORREST, 1979; ORDOÑES et al., 2005).

3.1.1 Transformação do Músculo em Carne

Ao sacrificar um animal de abate, suas funções vitais não cessam no momento da sua morte. Uma série de modificações bioquímicas e estruturais provocam a chamada transformação do músculo em carne ou mudanças *post-mortem* do músculo. No tecido muscular vivo, o sistema metabólico é bastante desenvolvido, seu objetivo é auxiliar na função do músculo que é a conversão de energia química em energia mecânica. A energia é

armazenada em compostos ricos em energia: ADP (adenosina difosfato), creatinafosfato (CP) e glicogênio (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010)

O glicogênio está distribuído em todos os tecidos, porém, a parte armazenada no fígado e músculo estriado apresenta maior importância na transformação do músculo em carne. A concentração de glicogênio a nível muscular, momentos antes do abate, definirá de maneira significativa a formação do ácido lático e a queda do pH e, conseqüentemente, a qualidade da carne (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; ORDOÑES et al., 2005).

As reações metabólicas baseiam-se nos níveis de ATP necessários para a realização da contração muscular e manutenção da homeostase celular. A circulação sanguínea no tecido muscular para a realização do transporte de oxigênio, substratos de energia e remoção do dióxido de carbono e produtos metabólicos finais, é de suma importância para manutenção do mecanismo metabólico (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

O animal recém abatido, que passou por um período de repouso, apresenta em seus músculos ATP, fosfocreatina e pH em torno de 6,9 a 7,2. Quando o animal é sacrificado, ocorre falha da circulação sanguínea devido a sangria, causando interrupção do fornecimento de oxigênio e nutrientes. Sem fluxo de oxigênio, a miofibrila utiliza-se do oxigênio restante ligado a mioglobina para realizar o metabolismo aeróbico. Ao cessar esse oxigênio, o músculo torna-se anaeróbico e a glicólise anaeróbica se torna a principal via metabólica para geração de ATP. Em anaerobiose, há formação de ácido lático e a ressíntese de ATP é menos eficaz, reduzindo a concentração de ATP, como consequência, iniciam-se as interações actina-miosina, forçando o músculo a entrar numa fase de contração contínua até que o ATP desapareça totalmente. Com isso as ligações actina-miosina se completam, e o músculo entra em conversão irreversível, chamada de *rigor mortis* (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; ORDOÑES et al., 2005).

O conteúdo de glicogênio muscular depende da espécie, raça do animal, grau de nutrição e fadiga prévia ao abate. Após o abate, os níveis de glicogênio começam reduzir de 5,5 a 6 vezes em 24 horas e a velocidade dessa redução varia de acordo com o animal de abate. O ácido lático é o produto formado no metabolismo anaeróbico, quando este não pode mais ser eliminado, acumula-se no interior da fibra muscular e reflete diretamente na redução do pH, que serve como indicador da taxa de glicólise *post-mortem* (ORDOÑES et al., 2005; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2006).

O pH muscular de um animal sadio, após abate varia em torno de 7,0 a 7,3. Após o sacrifício o pH reduz devido a degradação do ATP, que gera hidrogênio até chegar a um pH final que pode ir de 5,5 a 5,8 dependendo do animal. A velocidade da queda de pH, varia de acordo com a espécie animal, tipo de músculo, temperatura em que ocorre o processo *post-mortem* e fatores de estresse (ORDOÑES et al., 2005).

A fase final da conversão do músculo em carne, é conhecida como *post rigor mortis* ou resolução da rigidez cadavérica, que pode durar alguns dias ou até semanas dependendo da espécie animal. Nessa fase, ocorre um aumento gradual da flexibilidade e maciez do músculo, devido ao rompimento proteolítico da estrutura muscular (ORDOÑES et al., 2005).

3.2 QUALIDADE DA CARNE

A carne deve possuir propriedades funcionais excelentes, com padrões de qualidade estáveis, que garantam um produto final de boa qualidade e rentabilidade (BRESSAN, 1998). Entretanto, segundo Dirinck et al. (1996), um dos maiores desafios para a indústria de carnes é oferecer produtos macios, suculentos e com cor e sabor agradáveis. Algumas características importantes da carne são a capacidade de retenção de água, cor, textura, sabor e aroma, que podem ser influenciadas por anomalias, como PSE (*pale, soft e exudative*) e DFD (*dark, firm e dry*), além da oxidação lipídica e proteica.

3.2.1 Capacidade de Retenção de Água

Essa é uma propriedade importante para a qualidade da carne. É definida como a capacidade que a carne tem de reter total ou parcialmente a sua própria água mediante a aplicação de forças externas (compressão, impacto, cisalhamento) ou ao longo de um processo (maturação, congelamento, cozimento) (ROÇA, 2000; ORDOÑES et al., 2005).

A capacidade de retenção de água (CRA) influencia na cor, textura, suculência e valor nutritivo da carne. As proteínas são as responsáveis por essa propriedade, onde em cada 100 g de proteína encontram-se 350-360 g de água. Alguns fatores podem modificar a CRA, como efeito do pH, mudanças *post-mortem*, calor, força iônica, fosfatos, entre outros. Quando as proteínas miofibrilares estão no seu ponto isoelétrico, a CRA é mínima, com a adição de ácidos e álcalis a CRA aumenta. Os fatores *ante-mortem* que

provocam esgotamento parcial da reserva de glicogênio levam ao afastamento do pH final do ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares, e conseqüentemente aumentam a capacidade de retenção de água. A redução acentuada da CRA durante o desenvolvimento do *rigor mortis*, deve-se às mudanças de pH e as interações irreversíveis entre actina e miosina com conseqüente redução do espaço interfibrilar. Após resolução do *rigor mortis* a CRA pode aumentar devido à desorganização da estrutura miofibrilar (STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010; FORREST et al., 1979; ORDOÑES et al., 2005).

O calor leva à desnaturação das proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas, conseqüentemente ao decréscimo da CRA. Isso ocorre principalmente em temperaturas até 50°C, entre 50° e 90°C a redução da CRA é escassa, e acima de 90°C pode até aumentar devido às transformações do colágeno em gelatina (FORREST et al., 1979; ORDOÑES et al., 2005; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

A influência da força iônica na CRA, depende da quantidade e tipo de sal utilizado e do pH do sistema. Sendo assim, o *salting-in* eleva a solubilidade das proteínas, aumentando a retenção de água, enquanto o *salting-out* reduz a solubilidade das proteínas, precipitando-as e reduzindo a CRA.

A utilização de fosfatos pela indústria cárnea tem como objetivo elevar a capacidade de retenção de água, além desses fatores, a espécie animal, idade, teor de gordura, também influenciam. A CRA deve ser sempre levada em conta, independente do destino que se pretenda dar a carne, essa propriedade está intimamente associada à capacidade emulsificante, pois as duas dependem das propriedades funcionais das proteínas miofibrilares (FORREST et al., 1979; ORDOÑES et al., 2005; STRASBURG; XIONG; CHIANG, 2010).

3.2.2 Alterações de Qualidade da Carne Suína

Em carne suína, a principal influência na qualidade da carne são as anomalias PSE e DFD, relacionadas ao estresse pré-abate. O comprometimento do bem-estar animal durante etapas de abate induz mudanças no declínio do pH muscular *post-mortem*, influenciando na qualidade da carne, pois afeta diretamente a aparência, conservação e propriedades tecnológicas, como capacidade emulsificante e de retenção de água, influenciando diretamente na maciez, sabor, valor nutricional e rendimento industrial (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014).

Para alguns autores essa classificação está dividida em três categorias de acordo com medidas de cor, textura e *drip loss*: PSE (*pale, soft, exudative*), DFD (*dark, firm, dry*) e RFN (*reddish-pink, firm, non-exudative*) (VAN LAACK et al., 1994).

A carne, cujo processo *post-mortem* ocorreu adequadamente, é representada pela sigla RFN (*red, firm, non-exudative*), ou seja, apresenta cor vermelho brilhante, textura firme, exsudação normal e pH final entre 5,5 e 5,8. Essa carne é considerada a ideal para comercialização *in natura* e para o processamento (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014).

A carne DFD, apresenta características anormais como aspecto escuro, firme e seco. Isso se deve ao estresse crônico, como cansaço, maus tratos, jejum longo nas etapas que antecedem ao abate, com isso os níveis de glicogênio muscular são muito baixos no momento do abate afetando diretamente o pH *post-mortem* o qual se apresentará elevado, em torno de 6,2 a 6,6 (ORDOÑES et al., 2005).

Em carnes PSE, o aspecto é de uma carne pálida, flácida e exudativa, isso ocorre devido aos altos níveis de glicogênio, com uma queda de pH muscular induzida por um metabolismo intenso nos momentos que antecedem o abate. A elevada taxa de glicólise *post-mortem* causa rápida queda no pH muscular, quando a temperatura corporal ainda está alta, o que leva a desnaturação das proteínas musculares interferindo diretamente na CRA e aparência. A perda de água pela carne implica numa redução de peso da carcaça durante a refrigeração, acarretando em prejuízos de qualidade e econômicos (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014; ORDOÑES et al., 2005).

O declínio do pH em suínos causado pelo genótipo animal pode ser explicado pela seleção genética de suínos para a produção de carne magra. Apesar do objetivo alcançado, essa seleção levou ao desenvolvimento de animais altamente suscetíveis ao estresse, conseqüentemente, maior tendência ao PSE, além disso, constatou-se que os animais utilizados na seleção apresentavam uma mutação no gene que codifica a proteína rianodina (Ryr1), responsável por regular o fluxo de cálcio no músculo. Sendo assim, sob condições de estresse, há maior fluxo de cálcio para o sarcoplasma, conseqüentemente maior produção de ácido láctico no músculo, isso resultou no surgimento da síndrome do estresse suíno (PSS – *Porcine Stress Syndrome*), também conhecida como hipertemia maligna, que compromete a qualidade da carne através do desenvolvimento de carnes PSE. O gene halotano é o responsável por essa mutação, que além de ser responsável pela predisposição ao estresse suíno, também é responsável pela produção de carcaças com carnes magras. Os animais que

apresentam essa mutação são altamente sensíveis, com espasmos intensos, na presença do anestésico halotano (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014; MICKELSON; LOUIS, 1996).

Mesmo com essas três categorias de qualidade bem definidas em suínos, algumas variações puderam ser observadas ao longo dos anos, levando a uma avaliação imprecisa sobre a qualidade da carne suína. Considerando a variação de cor e/ou exsudado, duas categorias foram incluídas: RSE (*reddish-pink, firm, exudative*) e PFN (*pale, firm, non-exudative*) (KIM et al., 2017; FAUCITANO et al., 2010; VAN LAACK et al., 1994; CASSENS et al., 1992).

As carnes PFN são caracterizadas por apresentarem aparência mais pálida, mas com boa capacidade de retenção de água (KAUFFMAN et al., 1998; VAN LAACK et al., 1994; DOKMANOVIC et al., 2014). Estudos realizados por Dokmanovic et al. (2014) mostraram que 49 % das carcaças suínas apresentaram coloração pálida. A palidez em carnes PFN não apresentam relação com a queda de pH durante as transformações *post-mortem* (FAUCITANO et al., 2010; DOKMANOVIC et al., 2014). Kazemi et al. (2011), avaliaram a desnaturação de proteínas no músculo *longissimus dorsi* de suínos, e indicaram que a cor do músculo pálido em amostras PFN pode ser devido à desnaturação de algumas proteínas sarcoplásmicas. Faucitano et al. (2010), avaliaram carne suína com características RSE e PFN, que apresentam alta exsudação e palidez, respectivamente, tanto quanto a carne PSE, caracterizando-as como formas mais leves de PSE em carne suína.

Estudos recentes têm avaliado fatores bioquímicos e enzimáticos que podem de alguma forma afetar a capacidade de retenção de água em carne suína. Chen et al. (2010), determinou a atividade da fosfolipase ácida, fosfolipase A₂ e antioxidantes enzimáticos em carnes normais (RFN) e PSE de suínos e o possível efeito sobre o *drip loss* de carnes suínas e concluiu que carnes PSE apresentaram maior atividade das fosfolipase ácida e fosfolipase A₂, que estão diretamente relacionadas com a perda por gotejamento (*drip loss*) após 48 horas de armazenamento, confirmando que a fosfolipase A₂ exerce papel fundamental na ocorrência de carnes PSE. Os autores ainda encontraram valores maiores de oxidação lipídica e menor atividade da glutathione peroxidase em carnes PSE. Esses resultados sugerem que há maior dano na membrana da fibra nas carnes classificadas como PSE.

3.2.3 PSE em Carne de Aves

Carnes PSE são caracterizadas pela cor pálida e pobre capacidade de retenção de água representando um dos grandes problemas para as indústrias avícolas, sendo impróprias para processamento (OLIVO et al., 2001; KISSEL et al., 2009) e com alterações sensoriais (DROVAL, 2012).

Essas carnes resultam de uma taxa de glicólise *post-mortem* extremamente elevada, que causa um valor de pH muscular muito baixo, geralmente inferior a 5,8 enquanto a carcaça ainda está quente, levando a desnaturação das proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas (SOSNICKI et al., 1998).

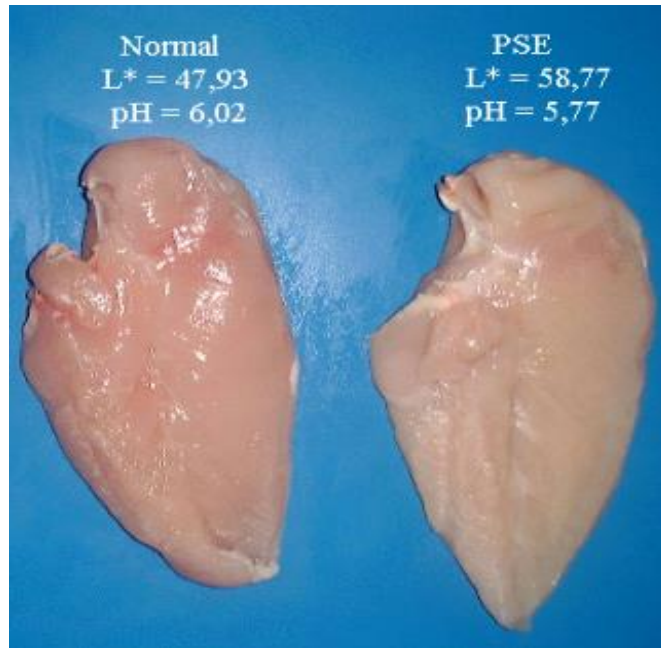
A desnaturação parcial das proteínas miofibrilares, ocasiona perdas na capacidade de retenção de água, levando a formação de géis e exsudado. Estas características geram problemas na indústria, como na produção de produtos cárneos emulsionados, afetando a estabilidade da emulsão (KISSEL et al., 2009), além de afetar na escolha do produto no momento da compra, pois são características perceptíveis e indesejáveis para o consumidor (DROVAL, 2012).

A avaliação do fenômeno PSE, pode ser realizada através das análises de pH, cor e capacidade de retenção de água do músculo do peito (*Pectoralis major*). A cor é um dos principais fatores que influenciam na escolha do consumidor, sendo que esta pode ser afetada por enzimas, dieta e idade do animal e manejo pré-abate (MUCHENJE et al., 2009; MANCINI; HUNT, 2005). A análise da cor é realizada pelo Sistema *Hunter L*. a*.b**, pois é rápido e não destrói a amostra. Carnes PSE de frangos apresentam L^* superior a 53, onde L^* indica luminosidade e apresenta valores que variam de 0 = escuro a 100 = claro, ou seja, as carnes PSE apresentam coloração pálida (OLIVO, 2006b), e esta palidez está diretamente relacionada com a desnaturações proteica ocasionada pelo baixo pH (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002).

Segundo Lara et al. (2002), o fenômeno PSE em frangos pode ser detectado pela combinação dos valores de pH (abaixo de 5,8) e cor (valor L^* acima de 52) aferidos em 24 horas após o abate. Na Figura 3 estão representados filés de frango classificados como Normal e PSE.

Soares et al. (2002) estabeleceram que o valor de L^* seria um parâmetro adequado para identificar carnes de frango com características PSE, pois apresenta correlação significativa com valor de pH. Segundo estes autores, filés com valores de $L^* \geq 53,00$ podem ser classificados como carnes PSE e L^* entre 44 e 53 são atribuídos aos filés com características Normais.

Figura 3 - Representação de Filé Normal e PSE.



FONTE: SOARES, 2003a.

Diferentemente de suínos, onde a ocorrência de PSE está relacionada ao gene halotano, em aves o PSE parece estar mais associado a fatores ambientais, como exposição das aves a condições de estresse térmico antes do abate (BARBUT, 1998; OLIVO et al., 2001; LARA et al., 2002; MARCHI et al., 2009), manejo pré-abate, como o transporte dos frangos da granja ao abatedouro (SIMÕES et al., 2009; OBA et al., 2009). Marchi et al. (2009) avaliando a sensibilidade de linhagens fêmeas ao halotano, constataram que apenas 2,5 % das aves que foram sensíveis ao halotano desenvolveram carnes PSE, enquanto que as aves insensíveis ao halotano apresentaram 12,7 % de carnes PSE, corroborando que o PSE de frangos está mais associado a fatores ambientais.

Em perus, alguns autores já avaliaram a incidência de PSE, através do valor L^* , que variaram de acordo com o autor. Barbut (1998) considerou valores de $L^* >50/51$, enquanto Owens et al. (2000), apresentou $L^* >53$ e Fraqueza et al. (2006), $L^* >50$. A incidência de PSE em perus chegou a 40 %, valores esse encontrado por Owens et al. (2000).

Nas carnes PSE a excessiva concentração de Ca^{2+} no citoplasma promove a ativação da enzima fosfolipase A_2 (PLA_2) (SOARES et al., 2003b). A enzima PLA_2 mitocondrial é ativada pelo Ca^{2+} e hidrolisa os fosfolipídios da membrana, liberando ácidos graxos insaturados de cadeia longa que induzem o retículo sarcoplasmático a liberar mais

Ca^{2+} ocasionando, então, a perda de controle da glicólise e a elevada formação de ácido láctico (CHEAH; CHEAH, 1981). Soares et al. (2003b) demonstraram que o estresse térmico pré-abate em frangos promove maior atividade da PLA_2 na presença de alta concentração de Ca^{2+} e consideraram esta enzima como indutora das reações bioquímicas e fisiológicas que ocasionam o PSE. A enzima PLA_2 atua sobre os fosfolípidios da membrana celular liberando ácido araquidônico (MURKAMI; KUDO, 2002), promovendo maior oxidação lipídica das carnes. Soares et al. (2009) observaram que no perfil de ácidos graxos das carnes PSE a fração correspondente ao ácido araquidônico foi 38,6 % maior que nas carnes Normais e a oxidação lipídica foi 27 % maior que as carnes normais. Segundo Carvalho et al., (2017) as proteínas de carnes de frango PSE são mais suscetíveis ao estresse oxidativo devido ao menor pH, que afeta a atividade dos antioxidantes enzimáticos (CAT, GSH-Px e SOD), esses danos oxidativos às proteínas contribuem para a perda da funcionalidade proteica prejudicando a capacidade de retenção de água dessas carnes.

3.3 RADICAIS LIVRES E ESPÉCIES REATIVAS AO OXIGÊNIO

Radical livre (RL) é uma estrutura química que possui um elétron desemparelhado, ou seja, um elétron ocupa um orbital atômico sozinho, tornando-se instável, altamente reativo e com capacidade de combinar com diversas moléculas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000). Em geral, são formados por absorção de radiação, reações redox ou processos de catálise enzimática (SLATER, 1984).

O oxigênio molecular (O_2) é um birradical, ou seja, é composto por dois elementos oxigênio (O), cujo número atômico é 8. Para formar o oxigênio molecular, os dois elétrons não pareados do subnível p de um átomo de oxigênio compartilham com os dois elétrons de outro átomo de oxigênio, formando um composto estável com 12 elétrons na última camada (PERÓN, 2001; FERREIRA et al., 1997).

Desta forma o oxigênio só pode reagir com moléculas com configuração eletrônica semelhante. Como a maioria das moléculas não são birradicais, o oxigênio fica impedido de reagir com as demais moléculas, evitando que alvos celulares sejam lesados. Porém, no processo de transferência de elétrons ou absorção de energia, pode levar o oxigênio a gerar as espécies reativas do oxigênio (OGA, 2003; FERREIRA et al., 1997).

Espécies reativas do oxigênio (ERO), é um termo utilizado para designar radicais livres de oxigênio e alguns não radicais derivados do O_2 capazes de gerar radicais

livres, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o ácido hipocloroso ($HClO$) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000).

Entre as espécies reativas do oxigênio, existe o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), que é o radical mais comum e abundante na célula. É formado no organismo através da cadeia de transporte de elétrons ou por ação de células fagocitárias. Quando no metabolismo normalmente ocorre uma redução do oxigênio molecular (O_2), este ganha um elétron, formando o radical superóxido, considerado instável por possuir número ímpar de elétrons na última camada L. O radical superóxido também pode ser gerado através da autooxidação e reações enzimáticas. A descoberta de sua ação em sistemas biológicos, partiu da descoberta da superóxido dismutase (SOD), enzima que catalisa a dismutação de $O_2^{\cdot-}$ em H_2O_2 (FERREIRA et al., 1997; BABIOR, 1997).

Outra ERO importante é o peróxido de hidrogênio, que tem a capacidade de gerar o radical hidroxila (OH^{\cdot}) na presença de metais. O H_2O_2 é formado principalmente na matriz mitocondrial, durante o processo de redução do oxigênio ou pela dismutação do radical superóxido pela enzima SOD (FRIDOVICH, 1998a; FERREIRA, et al., 1997).

O radical hidroxila é extremamente reativo, apresentando uma meia-vida extremamente curta, ocasionando lesões ao DNA, proteínas, carboidratos e lipídios. Das espécies reativas do oxigênio o OH^{\cdot} , é o que apresenta maior capacidade de lesionar células, pois o organismo não dispõe de um sistema enzimático de defesa contra esse radical (FERREIRA, et al., 1997; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000).

O oxigênio *singlet* (O_2^1) é um ERO capaz de modificar o DNA. Em tecidos seu tempo de meia-vida é menos que 0,5 microssegundos. Ele difere do O_2 no estado molecular por não apresentar restrição na transferência de elétrons, sendo altamente reativo. O O_2^1 responsável por causar danos às proteínas, devido a oxidação aminoácidos essenciais, por dar início a oxidação lipídica, produzindo radicais alcóxila (RO^{\cdot}) e peróxila (ROO^{\cdot}) (BECKMAN, 1998; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000; BRADLEY, 1992; FERREIRA et al., 1997).

3.3.1 Oxidação Lipídica

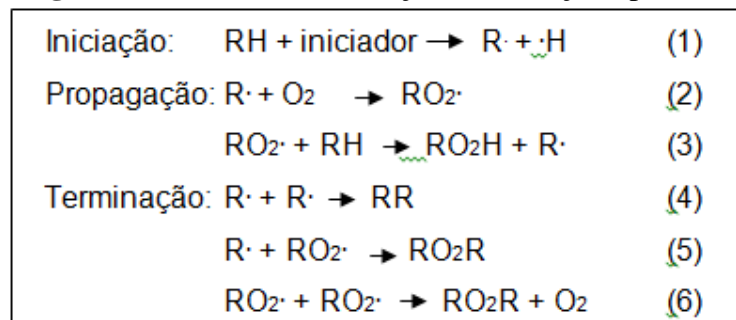
Alterações oxidativas são as principais causas não microbianas que afetam a qualidade da carne (DESCALZO et al., 2005). A oxidação lipídica em tecidos musculares pode ser iniciada por vários componentes provenientes de fontes internas e externas, como

por exemplo, no manuseio, processamento e armazenamento da carne o ferro endógeno é parcialmente responsável pela oxidação dos lipídios, resultando em odor de ranço e outros *off-flavours*. (CHEN et al., 1984; GATELLIER et al. 2005). Além das propriedades sensoriais, a oxidação lipídica também afeta as propriedades funcionais, como CRA e capacidade de emulsão, e nutricionais da carne e seus produtos.

A ocorrência da oxidação lipídica nos alimentos é inevitável, influenciando diretamente na qualidade dos produtos alimentícios. Nos últimos anos, pesquisas vêm sendo realizadas para limitar a ocorrência de oxidação durante o processamento e conservação dos alimentos, fornecendo aos consumidores produtos de alta qualidade (SILVA et al., 1999).

A oxidação lipídica ocorre em um mecanismo de três etapas: iniciação, propagação e terminação (Figura 4). Na primeira, há baixo consumo de oxigênio, baixa concentração de peróxidos, não ocorre alteração sensorial, porém há um aumento na concentração de radicais livres. A segunda etapa apresenta alto consumo de oxigênio, aumenta a concentração de peróxidos e inicia-se sua decomposição, começa a ocorrer alterações sensoriais. Na última etapa, terminação, cai o consumo de oxigênio, diminui a concentração de peróxidos e a alteração sensorial é perceptível, com aumento da viscosidade, alteração na cor, sabor e odor (POKORNY et al., 2001).

Figura 4 - Mecanismo da reação de oxidação lipídica.



Fonte: Adaptado de Ozilgen; Ozilgen (1990).

A oxidação lipídica inicia-se logo após o abate do animal, e em consequência disso cor, sabor, textura e o valor nutritivo da carne são afetados (SOARES et al., 2004).

Os lipídios estão representados por duas frações: fosfolipídica e triglicerídica. Membranas de células e organelas são compostas pela fração fosfolipídica, e no interior das células musculares e adipócitos estão presentes a fração triglicerídica que é a reserva energética (FERRARI, 1998).

Após o abate do animal, as alterações bioquímicas que acompanham a conversão do músculo em carne oferecem condições para que ocorra a oxidação lipídica, o fluxo sanguíneo cessa, ocorrendo falha no sistema antioxidante natural. A oxidação lipídica inicia-se nos músculos pelas frações fosfolipídicas. O grau de oxidação lipídica é influenciado por vários fatores pré-abate, como alimentação e estresse, e por fatores pós-abate, pH, temperatura da carcaça, encurtamento pelo frio, desossa mecânica, moagem entre outros (SOARES et al., 2004; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002). Estes processos pós-abate rompem as membranas musculares levando a liberação de proteínas e liberação do ferro presente na mioglobina.

Estudos realizados demonstraram que pode existir uma correlação entre a oxidação lipídica e a formação de metamioglobina (a forma oxidada do pigmento mioglobina). A oxidação do pigmento e a liberação do ferro cataliticamente ativo da molécula pode induzir a oxidação lipídica, levando ao ranço. Por sua vez, os radicais livres produzidos durante a oxidação lipídica podem oxidar o pigmento heme, bem como provocar a desnaturação da parte proteica, levando a mudanças de cor indesejáveis (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002).

Além de alterações na cor, a oxidação lipídica causa sabores indesejáveis e produção de substâncias que são potencialmente tóxicas como o malonaldeído, este apresenta efeito citotóxico, carcinogênico e mutagênico em seres humanos (GRAY et al., 1996, MORRISSEY et al., 1998).

3.3.2 Antioxidantes Enzimáticos

O estresse oxidativo tem seus danos minimizados pelo sistema de defesa antioxidante não enzimáticos e/ou enzimáticos, representado pelas enzimas superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase e glutathione reductase (BONNEFOY et al., 2002).

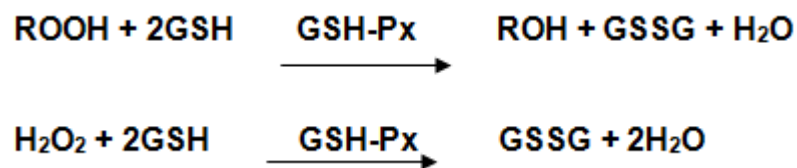
A detoxificação das espécies reativas ao oxigênio, depende de um mecanismo que atua de forma cooperativa. A regulação do sistema de defesa antioxidante enzimático depende principalmente de seus substratos, que são os radicais livres e espécies reativas do oxigênio, da produção de co-substratos e da afinidade, especificidade e seletividade por esse substrato (SIES, 1993).

3.3.2.1 Glutationa peroxidase (GSH-Px)

Peroxidases são enzimas que utilizam uma variedade de redutores celulares para inativar peróxidos, essas agem sobre o H_2O_2 e neutralizam peróxidos orgânicos (FRIDOVICH, 1998b).

A glutaciona peroxidase é uma seleno-enzima, pois utiliza o selênio como co-fator. Esta foi à primeira selenoproteína a ser descrita, sua ação baseia-se na oxidação da glutaciona (GSH) ao dissulfeto correspondente (GSSG). A GSH-Px atua sobre os peróxidos lipídicos e peróxidos de hidrogênio, convertendo-os em hidroxiácidos e água, a partir da glutaciona reduzida (GHS), (COMINETTI, 2011), conforme as reações apresentadas a seguir na **Figura 5**.

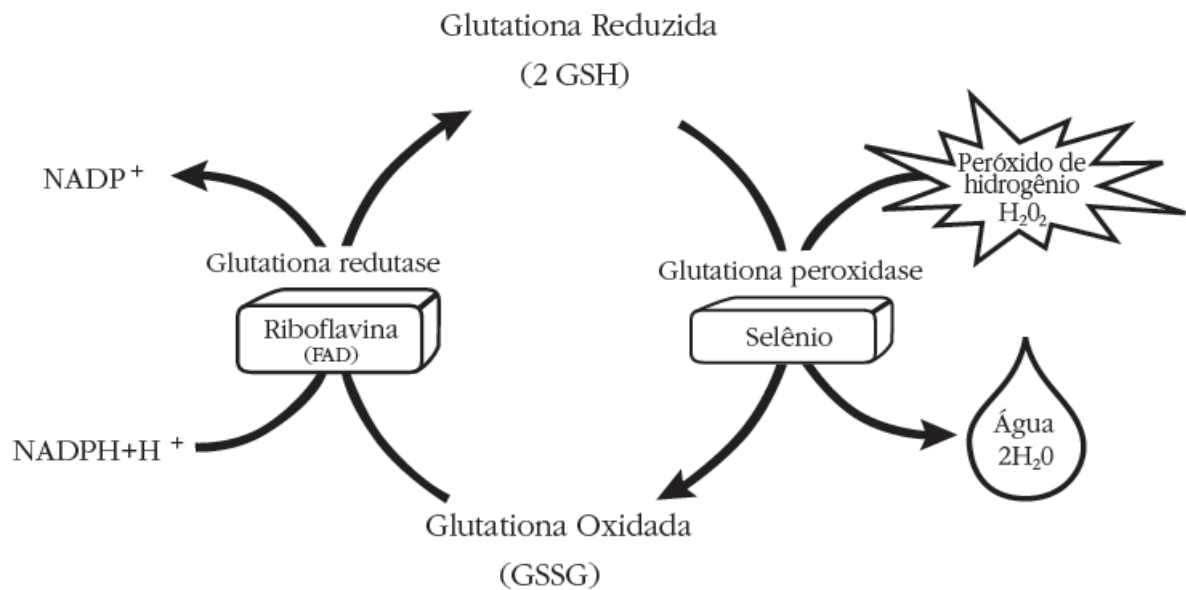
Figura 5 - Reação da Glutationa Peroxidase.



Fonte: COMINETTI (2011).

Nestas reações, duas moléculas de glutaciona reduzida (GSH) são oxidadas à glutaciona dissulfeto (GSSG) enquanto uma molécula de peróxido de hidrogênio ou peróxido lipídico é reduzida pela ação da GSH-Px. A glutaciona oxidada (GSSG) pode ser regenerada por meio da redução pela glutaciona redutase, conforme **Erro! Fonte de referência não encontrada.** (HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008).

Figura 6 - Ciclo oxidação-redução da glutathiona.



Fonte: COMINETI (2011).

O NADPH (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato) necessário para essa reação é provido, em tecidos animais, por uma série de sistemas enzimáticos, onde o mais importante é a via das pentoses-fosfato. A enzima glicose-6-fosfato desidrogenase é responsável por manter os níveis de NADPH para a redução da glutathiona oxidada (FRIDOVICH, 1998b).

O selênio induz a biossíntese da seleno-enzima GSH-Px, que tem como função no organismo ação antioxidante primária, protegendo espécies que utilizam metabolismo oxidativo da ação de radicais livres. A atividade de GSH-Px é considerada como um indicador da localização de selênio em uma variedade de espécies (GANTHER, 1979).

3.3.2.2 Superóxido dismutase (SOD)

A superóxido dismutase são metaloenzimas presentes em células aeróbicas que foram descobertas em 1969 por McCord e Fridovich, é considerada uma das enzimas antioxidantes mais importantes (BORELLA et al., 2004). São responsáveis pela dismutação do radical superóxido a peróxido de hidrogênio, que pode ser degradado pela catalase ou glutathiona peroxidase. Está predominantemente presente no citoplasma, mas também pode ser encontrada no núcleo da célula, peroxissoma e entre as membranas da mitocôndria (VALENTINE et al., 2005)

3.3.2.3 Catalase (CAT)

A catalase é uma ferrihemoenzima, sua principal função é dismutar peróxido de hidrogênio formando água e oxigênio molecular (FRIDOVICH, 1998).

É formada por unidades idênticas, onde cada monômero contém um grupo prostético heme no centro catalítico. Assim como a GSH-Px, a catalase precisa de NADPH para realizar a conversão de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular. A fonte de NADPH é a via pentose, através da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (URSINI et al., 1997).

Em animais, a atividade da catalase está presente em organelas subcelulares unidas pela membrana conhecida como peroxissoma, também está presente nos órgãos, principalmente no fígado. Alguns órgãos estão mais expostos aos danos ocasionados por espécies reativas do oxigênio por não apresentar peroxissomas (BORELLA et al., 2004).

A catalase atua na detoxificação de H_2O_2 , quando esse apresenta altas concentrações, enquanto a GSH-Px atua em baixas concentrações, isso se deve a catalase apresentar um K_m bem maior que da GSH-Px. No fígado, a presença de peróxido de hidrogênio é baixa, devido a elevada atividade da catalase (BORELLA et al., 2004).

3.4 PRODUTOS CÁRNEOS E TECNOLOGIA

Os hábitos alimentares tem sofrido grandes transformações ao longo dos anos, exigindo dos produtores/processadores de alimentos a produção de uma gama de produtos prontos e semi-prontos para o consumo, dentre eles estão os produtos cárneos como presuntos, nuggets, hambúrguer, filés cozidos prontos, entre outros (ÁVILA et. al. 2014).

A industrialização de carnes consiste na sua transformação em produtos cárneos, cujas características originais da carne fresca foram alteradas através de tratamentos físicos e/ou químicos. O processamento da carne fresca visa à elaboração de novos produtos, ofertando ao consumidor maior variedade de produtos que apresentam maior vida útil em relação as carnes *in natura*. Ele não modifica de forma significativa as características nutricionais, mas atribui características sensoriais como cor e sabor próprias de cada processo (FORREST et al., 1979; PEARSON; TAUBER, 1984).

Com o crescimento da atividade econômica, a exigência por produtos de

qualidade foram decisivos para o aumento da oferta de produtos e fez com que as indústrias alimentícias passassem a inovar mais, desenvolvendo uma diversidade de produtos e melhorando aqueles já existentes, sempre visando a qualidade (BORBA, 2013).

Para que um produto se mantenha no mercado, depende da aceitação dos consumidores, que tem na qualidade uma das características mais valorizadas. A maior parte dos fatores que afetam a qualidade da carne *in natura* e produtos cárneos podem ser controlados nas etapas de produção (BERAQUET et al., 1999). Porém outros fatores que interferem na qualidade ocorrem durante o manejo, transporte, abate ou logo após o abate (MENDES, 2001) como é o caso de anomalias PSE e DFD que alteram a pigmentação e capacidade de retenção de água das carnes frescas podendo influenciar na textura e interferir no processamento de produtos.

Em carnes *in natura* e produtos cárneos, a maciez e a cor são as características mais estudadas, seguida pela suculência, pois a textura de um produto é um dos itens mais apreciados pelo consumidor (BORGES et al., 2006). Produtos cárneos em sua maioria, passam por processos térmicos que podem alterar suas características físico-químicas, principalmente de textura, sendo necessário conhecer as modificações sofridas pela matriz cárnea (BORBA et al., 2013).

A indústria tem investido na elaboração de produtos cárneos a base de carne de frango, mas ainda não conquistou muitos consumidores acostumados com produtos produzidos com carne suína e bovina. Entre os produtos existentes no mercado o hambúrguer de frango e o peito de frango defumado, um análogo ao presunto suíno, ainda é pouco consumido, e durante seu processamento pode ter suas características funcionais afetadas pelo uso de carnes de frango com características PSE e PFN.

O peito de frango defumado tem um apelo voltado para saúde, indicado para pessoas que fazem dietas e praticam atividades físicas, pois segundo Soglia et. al (2016) o peito de frango apresenta baixo teor de gordura (0,87 %) e alto valor proteico (22,8 %) em relação a outros alimentos.

O hambúrguer é um produto popular devido a praticidade do seu consumo, com um período longo de vida útil quando armazenado corretamente, apresenta boas características nutricionais, porém normalmente a indústria não utiliza carnes nobres para seu preparo (ARISSETO, 2003) e a preferência do consumidor ainda é pelo hambúrguer bovino (MEIRA, 2013).

Segundo a legislação brasileira hambúrguer é o produto cárneo industrializado obtido da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado (BRASIL, 2000). Para peito de frango defumado não existe uma legislação específica que defina suas características de composição e qualidade.

Komiyama et al. (2009), classificaram peitos de frango em pálido (L^* -luminosidade acima ou igual a 49) e normal (L^* entre 43 e 48) logo após o abate, e elaboraram hambúrguer de frango e filés empanados com as duas características. No hambúrguer elaborado com carne pálida e normal os autores identificaram prejuízos na força de cisalhamento em três tempos de armazenamento (7, 60 e 120 dias) e na oxidação lipídica de 90 a 180 dias de armazenamento nos dois grupos, em avaliação sensorial por teste duo-trio os provadores não notaram diferença entre os grupos. Os autores também avaliaram filés empanados pálidos e normais e não encontraram diferenças significativas entre os grupos.

Bañón et al. (1998), elaboraram presunto seco e curado utilizando carne suína PSE e normal e notaram diferença significativa na capacidade de retenção de água entre os presuntos refrigerados e congelados no tempo inicial de armazenagem. Com relação a cor dos presuntos no tempo inicial não houve diferença. Na avaliação da cor após nove meses de cura sob refrigeração, apenas a luminosidade diferiu entre os grupos. Com os resultados da avaliação sensorial os autores não puderam afirmar se os presuntos elaborados com carnes PSE teriam menor índice de aceitação de mercado em relação aos presuntos elaborados com carnes normais.

Kissel et al. (2009) elaboraram mortadelas de frango com carnes PSE com e sem adição de aditivos (proteína isolada de soja, trifosfato de sódio e amido de mandioca) para avaliar a funcionalidade das carnes PSE durante o processamento e verificaram que, para obtenção de melhor estabilidade de emulsão e capacidade de retenção de água desses produtos, é necessário o uso desses aditivos.

Honorato (2012), avaliou o efeito da adição de hidrocoloides nas propriedades funcionais de nuggets e marinados preparados com carnes PSE de frango e observou melhorias nas propriedades funcionais desses produtos.

Entre os trabalhos publicados referentes ao processamento de produtos cárneos à base de frango, não foram encontrados estudos com peito de frango defumado e trabalhos que utilizaram carnes com características PFN na elaboração de produtos cárneos,

não havendo informações sobre a influência dessa característica no processamento de produtos cárneos.

3.4.1 Defumação

Um processo tecnológico muito utilizado pela indústria alimentícia para conservar e melhorar as características sensoriais é a defumação. Uma das técnicas de conservação mais antigas que se dá pela exposição do produto à fumaça produzida pela combustão incompleta da madeira desenvolvendo características sensoriais próprias ao produto defumado (LINGBECK et al., 2014; RAHMAN, PERERA, 1999).

A fumaça confere odor, sabor e cor característicos aos produtos defumados, os principais compostos encontrados na fumaça são os ácidos fórmico, acético, butírico, caprílico, vanílico e siríngico, dimetoxifenol, metil, glioxal, furfural, metanol, etanol, octanol, acetaldeído, diacetil, acetona e 3,4-benzo(a)pireno (BAGESTAN, 2012). Estes compostos apresentam desde propriedades sensoriais até bactericidas, contribuindo para a vida útil destes produtos (SILVA, 2010).

O método mais utilizado é a câmara de defumação, com a queima lenta da serragem úmida, sem produzir chama. A densidade de fumaça determina o tempo pelo qual o produto deve ser defumado para atingir o grau desejado de defumação. Após a deposição da fumaça diretamente no produto, o aquecimento completa o processo, desta forma o alimento fica exposto a todos os componentes da fumaça, sendo esses desejáveis ou não. Devido aos compostos indesejáveis, a defumação convencional está sendo substituída cada vez mais pelo emprego de fumaça líquida (BLISKA, 1996).

A produção de fumaça líquida natural se dá através da extração combinada de água com a fumaça desenvolvida pela pirólise de madeiras maciças, sem alteração de suas essências naturais. O produto da condensação é decantado e filtrado, de modo que o produto final obtido seja uma solução de fumaça líquida limpa e concentrada. O condensado natural de fumaça de madeira está livre de substâncias de alcatrão, e, portanto, isento dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e cancerígenos (ADICON, 1998).

As vantagens da aplicação de fumaça líquida pela indústria é a uniformidade de sabor e cor nos produtos, aplicabilidade em diversos produtos cárneos, assim como em outros não usualmente defumados como queijos, temperos, sopas, vegetais enlatados e condimentos e a baixa concentração de compostos indesejáveis como hidrocarbonetos

poliaromáticos (3,4-benzo(a)pireno) produzidos durante a combustão (GONÇALVEZ; HERNÁNDEZ, 1998).

A aplicação de fumaça líquida está sendo estudada em diversos tipos de produtos, comparando-a com a defumação convencional. Schwert (2014) avaliou o uso de fumaça líquida na elaboração de linguiça tipo calabresa cozida e defumada e verificou que seu uso proporcionou maior estabilidade de cor durante o tempo de armazenamento (28 dias a 20 °C) variando pouco a sua luminosidade (L^*).

Entretanto, Alves (2015) ao avaliar o efeito da substituição de 50 % de cloreto de sódio (NaCl) por cloreto de potássio (KCl) e da adição de lisina e fumaça líquida na qualidade de mortadelas com reduzido teor de gordura, concluiu que a utilização isolada ou combinada de lisina e fumaça líquida nas concentrações de 1 e 0,1%, respectivamente, não resultaram em nenhum benefício tecnológico ou sensorial para as mortadelas.

Brustolin (2013) avaliou o uso de defumação convencional e fumaça líquida na elaboração de bacon e verificou na determinação objetiva da cor que o tratamento com fumaça líquida apresentou maior tonalidade de coloração amarela, vermelha e luminosidade e/ou brilho, indicando que a fumaça líquida utilizada proporcionou aspecto visual mais claro e com tonalidade inferior de amarelo em comparação a fumaça tradicional. O uso de fumaça líquida também reduziu significativamente o tempo de cozimento trazendo ganho de produtividade.

Martinez et al. (2004) avaliou dois produtos à base de carne (lombo suíno salgado e bacon salgado) tratados com dois tipos de fumaça líquida analisando o perfil de textura após 15, 30 e 90 dias de armazenamento. Os dois tratamentos causaram mudanças nos parâmetros de textura dos produtos. A primeira fumaça que era pobre em compostos carbonílicos, modificou a coesão, a elasticidade e a gomosidade do lombo, e a dureza e elasticidade do bacon. E a segunda fumaça, rica em compostos carbonílicos, ocasionou mudanças na elasticidade e gomosidade do lombo, e de todos os parâmetros de textura no bacon. Em geral, o uso de fumaça líquida em produtos cárneos pode trazer benefícios, por não apresentar compostos carcinogênicos, e melhor as características dos produtos.

4 REFERÊNCIAS

- ABPA, **Associação Brasileira de Proteína Animal**: Relatório Anual. 2017. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/>. Acesso em: 12 agosto 2017.
- ADICON, Indústria e Comércio de Aditivos Ltda. **Uso e processos de Fabricação. Aditivos. Fumaças líquidas naturais**. Aplicação em produtos cárneos, 1998.
- ALVES, L. A. A. S. **Utilização de pele suína, farinha de banana verde, cloreto de potássio, lisina e fumaça líquida para a elaboração de mortadelas com reduzido teor de gordura e sódio**. 2015. 82 f. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2015.
- ARRISETO, A. P.; POLLONIO, M. A. R. Estudo da aceitação global e das características químicas do hambúrguer tipo calabresa, com reduzidos teores de nitrito e diferentes percentagens de gordura, durante armazenamento congelado. **Higiene Alimentar**, v.19, p.53-58, 2005.
- ÁVILA, M. D. R.; CAMBERO, M. I.; ORDOÑES, J. A. et. al. Rheological behaviour of commercial cooked meat products evaluated by tensile test and texture profile analysis (TPA). **Meat Science**, v.98, p.310–315, 2014.
- AVISITE. **Números do Paraná apontam tendência da carne de frango no 1º trimestre**. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/noticias/index.php?codnoticia=15007>. Acesso em: 15/08/2017.
- BABIOR, B. M. Superoxide: a two-edged sword. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 30, p. 141-155, 1997.
- BAGESTAN, Manoela M. **Perfil sensorial, físico, químico e microbiológico de embutido de peito de peru (*Maleagris gallopavo*) defumado**. 2012. 77 f. Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.
- BAÑÓN, S.; GIL, M.D.; GRANADOS, M.V.; GARRIDO, M. et al. The effect of using PSE meat in the manufacture of dry-cured ham. **Z Lebensm Unters Forsch A**. v.206, p.88-93, 1998.
- BARBUT, S. Estimating the magnitude of the PSE problem in poultry. **Journal Muscle Foods**, Trumbull, v.9, p.35-49, 1998.
- BAYNES, J.; DOMINICZAK, M. H. **Bioquímica Médica**. 1º ed. São Paulo: Manole, 2000. 566p.
- BECKMAN, K. B.; AMES, B. N. The Free Theory of Aging matures. **Physiological Reviews**, v. 78, p. 547-581, 1998.
- BERAQUET, N. J. Influência de fatores *ante e post mortem* na qualidade da carne de aves. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* v.1, p.155-166, 1999.
- BLISKA, F. M. M.; VIANA, A.G.; FREITAS, M.H.A. **Defumação de Produtos Cárneos**. Ital, Campinas, 23p, 1996.
- BONNEFOY, M.; DRAY, J.; KOSTKA, T. Antioxidants to Slow Aging: Facts and Perspectives. **Presse Medicale**, v. 31, p.1174-1184, 2002.

- BORBA, C. M.; OLIVEIRA, V. R.; MONTENEGRO, K. R. et al. Diferentes processamentos de hambúrguer bovino e de frango. **Brazilian Journal Food and Nutrition**, v.24, p.21-27, 2013.
- BORELLA, M. L. L.; VARELA, Q. D. Antioxidantes Enzimáticos. In: SALVADOR, M., HENRIQUES, J. A. P. **Radicais Livres e a Resposta Celular ao Estresse Oxidativo**. 1º Edição. Canoas:ULBRA, p.35-49, 2004.
- BORGES, A. S.; ZAPATA, J. F. F.; GARRUTI, D. S. et al. Medições instrumentais e sensoriais de dureza e suculência na carne caprina. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 891-896, out.-dez. 2006.
- BRADLEY, D. G.; MIN, D. B. Singlet Oxygen oxidation in foods. **Food Science and Nutrition**, v.31, p.211-236, 1992.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e qualidade de hambúrguer. Instrução normativa nº20, de 31/07/2000**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, p.7-9, 2000.
- BRESSAN, M. C. **Efeito dos Fatores Pré e Pós-abate Sobre a Qualidade da Carne de Peito de Frango**. Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 1998.
- BRUSTOLIN, Adriane P. **Defumação convencional e líquida em bacon**. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2013.
- CARVALHO, R.H.; IDA, E.I.; MADRUGA, M.S.; et al. Underlying connections between the redox system imbalance, protein oxidation and impaired quality traits in pale, soft and exudative (PSE) poultry meat. **Food Chemistry**, v.215, p.129-137, 2017.
- CASSENS, R. G. KAUFFMAN, R.G., SCHERER, A., MEEKER, D.L. Variation in Pork Quality. IN: **Proceedings of the 38th International Congress of Meat Science and Technology (ICOMST)**. 1991, Clermont-Ferrand, France, p. 237–240, 1992.
- CHEAH, K. S.; CHEAH, A. M. Skeletal Muscle Mitochondrial phospholipase A₂ and the Interaction of Mitochondrial and Sarcoplasmic Reticulum in Porcine Malignant Hyperthermia. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.638, p.40-49, 1981.
- CHEN, C. C.; PEARSON, A. M.; GRAY, J. I. et al. Some factors influencing the non heme iron content of meat and its implications in oxidation. **Journal of Food Science**, v.49, p. 581–584, 1984.
- CHEN, T.; ZHOU, G.X.; XU, X.L.; ZHAO, G.M.; LI, C.B. Phospholipase A₂ and Antioxidant Enzyme Activities in Normal and PSE Pork. **Meat Science**, v. 84, p. 143-146, 2010.
- COMINETTI, C.; BORTOLI, M. C.; COZZOLINO. S. M. F. Considerations About Oxidative Stress, Selenium and Nutrigenetics. **Journal Brazilian Society Food Nutrition**, v.36, n.3, p. 131-153, 2011.
- DESCALZO, A. M.; INSANI, E. M.; BIOLATTO, A. et al. Influence of Pasture or Grain-based Diets Supplemented With Vitamin E on Antioxidant/oxidative Balance of Argentine Beef. **Meat Science**, v.70, p. 35-44, 2005.

- DIRINCK, P.; WINNE, A.; CASTEELS, M. et al. Studies on Vitamin E and Meat Quality: Effect of feeding high vitamin E levels on time-related pork quality. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 44, p. 65-68, 1996.
- Dokmanovic, M., Velarde, A., Tomovic, V., Glamoclija, N., Markovic, R., Janjic, J. Baltic, M.Z. The effects of lairage time and handling procedure prior to slaughter on stress and meat quality parameters in pigs. **Meat Science**, v.98, p.220-226, 2014.
- DROVAL, A. A., BENASSI, V. T., ROSSA, A. et al. Consumer attitudes and preferences regarding pale, soft, and exudative broiler breast meat. **Poultry Science**, v.21, p.502-507, 2012.
- FAUCITANO, L.; IELO, M. C.; STER, C. et al. Shelf Life of Pork from Five Different Quality Classes. **Meat Science**, v. 84, p. 466-469, 2010.
- FERRARI, C. K. B. Lipid Oxidation in Food and Biological Systems: General Mechanisms and Nutritional and Pathological Implications. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 11, p. 3-14, 1998.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais Livres: Conceitos, Doenças Relacionadas, Sistema de Defesa e Estresse Oxidativo. **Revista Associação Médica Brasileira**, v. 43, p. 61-68, 1997.
- FORREST, J. C. et al. **Fundamentos da Ciencia de la Carne**. Zaragoza: Acribia, p. 22-36. 1979.
- FRAQUEZA, M. J.; CARDOSO, A. S.; FERREIRA, M. C. et al. Incidence of *Pectoralis Major* Turkey Muscles With Light and Dark Color in a Portuguese Slaughterhouse. **Poultry Science**, v.85, p. 1992-2000, 2006.
- FRIDOVICH, I. Oxygen Toxicity: a radical explanation. **Journal of Experimental Biological Sciences**, v. 201, p. 1-15, 1998a.
- FRIDOVICH, I. Oxygen Toxicity: a radical explanation. **Journal of Experimental Biological Sciences**, v. 201, p. 1203-1209, 1998b.
- GANTHER, H. E. Metabolism of Hydrogen Selenide and Methylated Selenides. In: DRAPER, N.H. **Advances in Nutritional Research**, New York: Plenum Press, v.2, p. 107-128, 1979.
- GATELLIER, P.; MERCIER, Y.; JUIN, H.; RENERRE, M. Effect of Finishing Mode (Pasture or Mixed Diet) on Lipid Oxidation in Meat from Charolais Cattle. **Meat Science**, v. 69, p. 175-186, 2005.
- GIROTTI, A. F; AVILA, V. S. **Aspectos da produção, exportação, consumo e custos de produção e implantação de aviários**. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ave/ProducaoodeFrangodeCorte/Importancia-economica.html>. Acesso em: 06 agosto 2014.
- GOMIDE, L. A. M., RAMOS, E. M., FONTES, P. G. (2013) *Ciência e qualidade da carne: Fundamentos* Viçosa, Brasil.
- GONÇALVES, A. A.; HERNÁNDEZ, C. P. Defumação líquida de Anchova (*Pomatomus saltatrix*): Efeito do processamento nas propriedades químicas e microbiológicas. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.4, 1998.
- GRAY, J. I.; GOMAA, E. A.; BUCKLEY, D. J. Oxidative Quality and Shelf Life of Meats. **Meat Science**, v. 43, p.111-123, 1996.

- HALLIWEALL, B.; GUTTERIDGE, J. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3 edição. Oxford: Biosciences, 2000.
- HONORATO, Danielle C. B. **Efeito da adição de hidrocolóides nas propriedades funcionais e avaliação de nuggets e marinados preparados com carnes pse (*pale, soft, exudative*) de frango**. Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.
- HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, A. Glutathione e Enzimas Relacionadas: Papel Biológico e Importância em Processos Patológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008.
- IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas**. 2016. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abat-e-leite-couro-ovos_201401comentarios.pdf. Acesso em: 15/07/2014.
- KAMINISHIKAWAHARA, C. M.; MENDONÇA, F.J.; GRESPAN, M. et al (2016) Pale, Firm and Non-exudative (PFN): An Evidence Of An Emerging Major Broiler Breast Meat Color Group. **18th International Conf. on Agricultural Sci. and Food Engineering**, Tokyo, Japan
- KAUFFMAN, R. G.; VAN LAACK, R. L. J. M.; RUSSELL, R. L. et al. Can pale, soft, exudative pork be prevented by postmortem sodium bicarbonate injection? **Journal of Animal Science**, v.76, p.3010-3015, 1998.
- KAZEMI, S., NGADI, M.O., GARIÉPY, C. Protein Denaturation in Pork Longissimus Muscle of Different Quality Groups. **Food Bioprocess Technology**, v.4, p.102-106, 2011.
- KIM, T.W.; KIM, I.; HA, J., KNOW, S.G. et al. Comparison among meat quality classes according to the criteria of post-mortem pH_{24hr}, drip loss and color in Berkshire pigs. **Indian Journal Animal Res.**, v51, p.182-186, 2017.
- KISSEL, C.; SOARES, A. L.; ROSSA, A. et al. Functional Properties of PSE (*Pale, Soft, Exudative*) Broiler Meat in the Production of Mortadella. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. special, p. 213-217, 2009.
- KOMIYAMA, C. M.; MENDES, A. A.; TAKAHASHI, S. E. et al. Características qualitativas de produtos elaborados com carne de frango pálida e normal. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.29, p.38-45, 2009.
- LARA, J. A. F.; NINOV, K.; BONASSI, C. A. et al. Estresse Térmico e Incidência de Carne PSE em Aves. In: CONFERÊNCIA APINCO, 2002, Campinas. **Anais Conferência APINCO**, Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, v. 04, p.15-15, 2002.
- LINGBECK, J. M.; CORDERO, P., O'BRYAN, C. A., et al. Functionality of liquid smoke as an all-natural antimicrobial in food preservation. **Meat Science**, v.97, p.197-206, 2014.
- MANCINI, R. A.; HUNT, M.C. Current Research in Meat Color. **Meat Science**, v. 71, p.100-121, 2005.
- MAPA. **Ministério da Agricultura e Abastecimento** - Aves. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/aves> Acesso em: 15/07/2014.
- MARCHI, D. F.; TRINDADE, M. A.; OBA, A. et al. Sensitivity to Halothane and its Relationship to the Development of PSE (Pale, Soft, Exudative) Meat in Female Lineage Broilers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, n. special, p.219-223, 2009.

- MARTINEZ, O.; SALMERÓN, J.; GUILLÉN, M. D. et al. Texture profile analysis of meat products treated with commercial liquid smoke flavourings. **Food Control**, v.15, p.457-461, 2004.
- MEIRA, Dênia P. **Produto Tipo Hambúrguer Formulado com Carne Bovina e Mandioca**. Dissertação de Mestrado. Diamantina - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2013.
- MENDES, A. A. Rendimento e qualidade da carcaça de frangos de corte. In: **Anais da Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas**, Campinas, Brasil, v.2, p.79-99, 2001.
- MICKELSON, J. R.; LOUIS, C. F. Malignant Hyperthermia: excitation-contraction coupling, Ca^{+2} release channel, and cell Ca^{+2} regulation defects. **Physiological Reviews**, v.76, p.537-597, 1996.
- MORITA, H.; SEIDMAN, J.; SEIDMAN, C. E. Genetic Causes of Human Heart Failure. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 3, 2005.
- MORRISSEY, P. A.; SHEEHY, P. J. GALVIN, K. et al. Lipid Stability in meat and meat products. **Meat Science**, v. 49, p. 73-78, 1998.
- MUCHENJE, V.; DZAMA, K.; CHIMONYO, M. et al. Some Biochemical Aspects Pertaining to Beef Eating Quality and Consumer Health: A Review. **Food Chemistry**, v. 112, p. 279-289, 2009.
- MURAKAMI, M.; KUDO, I. Phospholipase A₂. **Journal Biochemistry**, v. 131, p. 285-292, 2002.
- OBA, A.; ALMEIDA, M.; PINHEIRO, J. W et al. The Effect of Management of Transport and Lairage Conditions on Broiler Chicken Breast Meat Quality and DOA (Death on Arrival). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, p. 205-211, 2009.
- OGA, Z. **Fundamentos de Toxicologia**. 2 edição. São Paulo: Atheneu, 2003.
- OLIVO R.; SOARES, A. L.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional proprieties. **Journal of Food Biochemistry**, v. 25, n. 4, p. 271-283, 2001.
- OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: No Caminho da Pesquisa**. 2 edição. Cocal do Sul: IMPRINT, 2002.
- OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Carne PSE. In: SHIMOKOMAKI, M. et.al. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de carnes**. São Paulo: Varela, p.85-103, 2006a.
- OLIVO R. **O mundo das carnes: Ciência, Tecnologia e Mercado**. 3ªed. Criciúma: Ed. do autor, 2006b.
- ORDOÑES, J. A. P; et al. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**, v. 2, Porto Alegre:Artmed, 2005.
- OWENS, C. M.; HIRSCHLER, E. M.; MCKEE, S. R. et al. The Characterization and Incidence of Pale, Soft, Exudative Turkey Meat in a Commercial Plant. **Poultry Science**, v.79, p.553-558, 2000.
- OZILGEN, S., OZILGEN, M. Kinetic Model of Lipid Oxidation in Foods. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 2, 1990.

- PEARSON, A.M.; TAUBER, F.W. **Processed meats**, New York, VanNostrand Reinhold Company, 427p. 1984.
- PERÓN, J. M.; LÓPEZ, J. R. M.; LÓPEZ, Y. T. Radicales Libres em la Biomedicina y Estrés Oxidativo. **Revista Cubana de Medicina Militar**, v. 30, p.15-20, 2001.
- POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in Food: Practical Applications**, ed. 1, Cambridge: CRC Press, 2001.
- RAHMAN, M. S., PERERA, C.O. Drying and Food Preservation. In: **Handbook of Food Preservation**. Rahman MS (ed). Marcel Dekker, Inc., New York, p.173-216, 1999.
- ROÇA, O. R. **Propriedades da carne**. Botucatu, 2000. Disponível em: <http://pucrs.campus2.br/~thompson/TPOACarne/Roca107.pdf>. Acesso em: 07 agosto 2017.
- SIES, H. Strategies of Antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, p.213-219, 1993.
- SIMÕES, G. S.; OBA, A.; MATSUO, T. et al. Vehicle Thermal Microclimate Evaluation During Brazilian Summer Broiler Transport and the Occurrence of PSE (Pale, Soft, Exudative) Meat. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, p.195-204, 2009.
- SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos Para Avaliação do Grau de Oxidação Lipídica e da Capacidade Antioxidante. **Química Nova**, v. 22, p.94-103, 1999.
- SILVA, João Henrique. **Aspectos Tecnológicos Relacionados à Fabricação do Bacon**. Monografia em Engenharia de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- SLATER, T. F. Free Radical Mechanism in Tissue Injury. **Biochemical Journal**, v.222, p.1-15, 1984.
- SCHWERT, R. **Avaliação do uso de fumaça líquida em linguiça tipo calabresa cozida e defumada** Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2014.
- SOARES, A. L.; LARA, J.A.F.; IDA, E.I. et al. Variation in the Colour of Brazilian Broiler Breast Fillet. Proceedings International **Congress of Meat Science Technology**, Roma, v.48, n.2, p.540-541, 2002.
- SOARES, A. L. **PSE (Pale, Soft, Exudative) em frangos: Implementação de parâmetro de cor e avaliação bioquímica e estrutural do filé (Pectoralis Major)**. Tese de Doutorado em Ciência de Alimentos - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2003a.
- SOARES, A. L.; IDA, E.I., MIYAMOTO, S. et al. Phospholipase A₂ Activity in Poultry PSE, Pale, Soft, Exudative. **Journal Food Biochemistry**, v. 27, p.309-319, 2003b.
- SOARES, A. L.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. et al. Synergism Between Dietary Vitamin E and Exogenous Phytic Acid in Prevention of Warmed-Over Flavour Development in Chicken Breast Meat (*Pectoralis Major* m.). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, p. 57-62, 2004.
- SOARES, A. L.; MARCHI, D.F., MATSUSHITA, M. et al. Lipid Oxidation and Fatty Acid Profile Related to Broiler Breast Meat Color Abnormalities. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, n.6, p. 1513-1518, 2009.
- SOGLIA, F.; MUDALAL, S.; BABINI, E. et al. Histology, composition, and quality traits of chicken *Pectoralis major* muscle affected by wooden breast abnormality. **Poultry Science**, v.95, p.651-659, 2016.

- SOSNICKI, A. A.; GREASES, M. L.; PIETRZAK, M. et al. PSE-like Syndrome in Breast Muscle of Domestic Turkeys: a review. **Journal Muscle Foods**, v.9, p.13-23, 1998.
- STRASBURG, G; XIONG, Y. L.; CHIANG, W. Fisiologia e Química dos Tecidos Musculares Comestíveis. IN: DAMODARAN, S; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4º Edição. Porto Alegre: Artmed, p. 719-758, 2010.
- URSINI, M. V.; PARELLA, A.; ROSA, G. et al. Enhanced Expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human cells sustaining oxidative stress. **Biochemical Journal**, v.323, p.801-806, 1997.
- USDA, U.S. Department of Agriculture: Produção brasileira de frango deve crescer 3% em 2018. 2017. Disponível em: <https://avicultura.info/pt-br/usda-producao-brasileira-de-frango-2018/>. Acesso em: 28 agosto de 2017.
- VALENTINE, J. S., DOUCETTE, P. A., ZITTIN, P. S. Copper-zinc superoxide dismutase and amyotrophic lateral sclerosis. **Annu. Rev. Biochem**, v.74, p.563-593, 2005.
- VAN LAACK, R. L. J.; KAUFFMAN, R. G.; SYBESMA, W. et al. Is Colour Brightness (*L*-Value) a Reliable Indicator of Water-Holding Capacity in Porcine Muscle. **Meat Science**, v.38, p.193-201, 1994.

5 RESULTADOS

Os Resultados e Discussão desta Tese foram redigidos na forma de três artigos científicos, os quais estão apresentados a seguir:

ARTIGO 1: PFN (*pale, firm and non-exudative*) a new category broiler breast meat: antioxidant enzymes, biochemical parameters and comparison to PSE (*pale, soft, exudative*) meat

- Este artigo será submetido à Revista Journal Food Biochemistry.

ARTIGO 2: Development of meat product based on chicken breast with liquid smoke using PSE (*pale, soft, exudative*) and PFN (*pale, firm and non-exudative*) breast meat

ARTIGO 3: Development and evaluation of hamburger prepared with liquid smoked using PSE (*pale, soft, exudative*) and PFN (*pale, firm and non-exudative*) broiler breast meat

- Os artigos 2 e 3 serão submetidos à Revista International Journal of Food Science & Technology.

5.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1

PFN (*pale, firm and non-exudative*) a new category broiler breast meat: antioxidant enzymes, biochemical parameters and comparison to PSE (*pale, soft, exudative*) meat

JULIANA NUNES DE ALMEIDA, THAÍS DORNELAS, MOISES GRESPAN, ADRIANA
LOURENÇO SOARES

PFN (PALE, FIRM AND NON-EXUDATIVE) A NEW CATEGORY BROILER BREAST MEAT: ANTIOXIDANT ENZYMES, BIOCHEMICAL PARAMETERS AND COMPARISON TO PSE (PALE, SOFT, EXUDATIVE) MEAT

JULIANA NUNES DE ALMEIDA¹, THAÍS DORNELLAS¹, MOISES GRESPAN², ADRIANA LOURENÇO SOARES¹

¹Department of Food Science and Technology, State University of Londrina, Paraná, Brazil

²Cascavel, Paraná, Brazil

ABSTRACT

The objective this study was to investigate biochemical and physicochemical characteristics of PFN broiler breast meat and compare to PSE poultry meat to establish a new category of chicken meat quality. Breast meat from a commercial plant were classified into three categories: PSE (pH \leq 5.8, L* \geq 53.0), PFN (pH $>$ 5.8, L* \geq 53.0) and Normal (pH $>$ 5.8, L* $<$ 53.0). The PFN samples presented higher water holding capacity values and lower drip loss values when compared to PSE samples. The PSE meat presented 56 % more lipid oxidized than PFN and Normal meat. The superoxide dismutase activity was lower in PSE meat than PFN samples. The catalase and glutathione peroxidase did not differ among three groups. The PSE meat presented higher percentage of saturated fatty acid and lower percentage of ω 6 fatty acid. PFN meat, despite similarities with normal meat, can be considered a new category of broiler breast meat that features different characteristics of PSE meat.

KEYWORDS: Glutathione peroxidase, catalase, superoxide dismutase, lipid oxidation.

PRACTICAL APPLICATIONS

On commercial processing line we observed that broiler breast meat is paler than normal but ultimate pH is not necessarily low leading to inaccurate evaluation of quality meat. This study led to investigate the new category of quality meat a PFN and compare to PSE meat regarding to biochemical and enzymatic characteristics.

1 INTRODUCTION

Fresh chicken breast meat is traditionally classified into three categories: PSE (pale, soft, exudative), DFD (dark, firm, dry) and Normal or RFN (Reddish-Pink, Firm, Non-exudative) according to measurements of color (L*) and pH (Soares et al., 2002, Barbut 2008, Langer et al., 2010; Liu et al, 2014, Spurio et al., 2016). Recently, it was observed that the chicken breast meat appears lighter than normal with normal ultimate pH and non-exudative leading to inaccurate evaluation of poultry meat quality. Thus, another category of poultry meat was suggested as PFN meat (Pale, Firm, Non-exudative) (Kaminishikawahara et al., 2016). In pork meat, there are five meat categories: RFN, PSE, PFN, DFD and RSE (Red, Soft, Exudative) (Kim et al., 2017 Faucitano et al., 2010; Van Laack et al., 1994; Cassens et al., 1992) based on measurements of color (L* value), pH and drip loss.

PSE meat is characterized by low water-holding capacity (WHC) due to protein denaturation caused by rapid post-mortem muscle glycolysis (Barbut 2008, Olivo et al., 2001, Lesiow and Xiong, 2013). Instead, PFN meat is characterized by light appearance but a good WHC (Kauffman et al., 1998, Van Laack et al, 1994; Dokmanovic et al., 2014).

Chen et al. (2010) suggested that the phospholipase A₂ (PLA₂) and glutathione peroxidase (GSH-Px) play important roles in drip loss of PSE pork meat. Indeed, Soares et al. (2003)

postulated that mitochondrial PLA₂ activity is the triggering factor in initiating the PSE broiler meat leading to drip loss and lipid oxidation. The lipid and protein oxidation were more pronounced in PSE poultry meat in relation to normal meat (Soares et al., 2009, Carvalho et al., 2017). In relation to PFN meat triggering factor and oxidative status have not yet been elucidated.

Muscles presented several endogenous antioxidant enzymes, such as, superoxide dismutase (SOD), catalase and glutathione peroxidase (GSH-Px) that protect against lipid and protein oxidation in post rigor meat (Li et al., 2015). Catalase and GSH-Px are cytosolic enzymes considered the major peroxide-removing (Chan and Decker, 1994; Decker and Xu, 1998), while the SOD enzymes removed the superoxide anion (Chan and Decker, 1994). The enzymes SOD and catalase work together, in which SOD scavenges superoxide anions by forming hydrogen peroxide, and catalase safely decomposes hydrogen peroxide to water and oxygen; GSH-Px can decompose both hydrogen peroxide and lipoperoxides formed during lipid oxidation (Gatellier et al., 2004; Terevinto et al., 2010). Catalase acts on the detoxification of hydrogen peroxide when it has high concentrations, whereas GSH-Px acts at low concentrations, since catalase has a substrate concentration higher than GSH-Px.

The information about relationship between antioxidant enzymes (catalase, SOD and GSH-Px) and PSE, PFN poultry meat is limited. Thus, the objective of this study was investigate biochemical and physicochemical characteristics of PFN broiler breast meat and compare to PSE poultry meat to establish a new category of chicken meat quality.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Samples

Fillet meat (*Pectoralis major* m.) samples were obtained from 42-day old broilers from a commercial plant located in the South of Brazil in the month of December. The animals were slaughtered according to the standard industrial practice and essentially consisted of electrical stunning, bleeding, scalding defeathering, evisceration, water-cooling the carcass, deboning and refrigeration. The length of time from slaughtering to samples collection was about 2 hours.

The samples were then classified after 24 h post-mortem into PSE, PFN and Normal meat as described Kaminishikawahara *et al.* (2016) where PSE ($\text{pH} \leq 5.80$ and $L^*_{24\text{h}} \geq 53.0$), PFN ($\text{pH} > 5.80$ and $L^* \geq 53.0$) and Normal ($\text{pH} > 5.80$ and $L^* < 53.0$). The experiment to verify the incidence of PSE and PFN samples was conducted with 698 samples in a commercial plant, which slaughters 340,000 broilers/day. After, a total of 45 samples (*Pectoralis major* m.) were collected and divided into three category: PSE (n=15), PFN (n=15) and Normal (n=15) for biochemical and enzyme activities evaluations. The samples for antioxidants enzyme determination were packed and stored at -80°C until analyzed.

2.2 Biochemical Parameters

The pH were measured at 2 h and 24 hours post-mortem by inserting electrodes into the meat samples using a portable pH meter (Testo 205), as reported in Olivo et al. (2001).

A Minolta CR400 colorimeter was used to evaluate the color (L^* , a^* , b^*) of the posterior surface of intact skinless breast muscle at 24 h post-mortem. The L^* , a^* and b^* values were measured at three different points on the same sample: the proximal extremity of muscle, the distal extremity of the muscle and the medial side half-way between the proximal and distal extremities (Soares et al., 2003).

The drip loss (DL) was evaluated as described to Honikel (1998). A sample the chicken fillet with 80-100 g was suspended in a plastic bag for 48 h at 4 °C. The percentage drip loss was calculated using the following equation: $[(\text{initial weight} - \text{final weight})/\text{initial weight}] \times 100$.

The water holding capacity (WHC) was determined based on the technique of Hamm (1960), as described in Wilhelm et al. (2010). The WHC was determined by the exudate water weight through the following equation: $100 - [(\text{initial weight} - \text{final weight})/\text{initial weight}] \times 100$.

The shear force (SF) was measured in in nature samples and in cooked samples (samples were packed in plastic bags and submitted to cooking in a water bath until internal temperature reached 75 °C). Samples were cut into rectangular pieces 1x1x2 cm³ and analyzed on a texturometer TATX-2i coupled with Warner Bratzler lamina at the speed of 5 mm/second. The results were expressed in Newton (N).

2.3 Lipid oxidation

Lipid oxidation was assessed using TBARS (thiobarbituric acid reative substances) as described by Tarladgis, Pearson, Dugan (1964). The TBARS values were expressed as milligrams of TBARS per kilogram of meat. Briefly, 20 g of sample was blended with 98 mL of distilled water and 2.5 mL of HCl 4 mol.L⁻¹. This solution was distilled for 10 min. and were collected 50 mL, 5 mL of distilled was reacted with 5 mL of 0.02 mol.L⁻¹ of TBA, heated for 35 minutes at 100 °C (water bath), cooled, and the concentration was spectrophotometrically measured at 535 nm. Tetraethoxypropane was used as the standard.

2.4 Antioxidants enzymes

Catalase activity was evaluated according to Mahecha (2011). Basically, 5 g of muscle sample was homogenized in Turrax with 10 mL of buffer 50 mmol.L⁻¹ KH₂PO₄ – K₂HPO₄ pH 7.0 (60 s at 16,000 rpm in while being cooled on ice) and centrifuged at 4 °C for 20 min at 8,500 x g. The supernatant was filtered through paper filter and used to determine antioxidant enzyme activity. An aliquot of 20 µL of enzyme extract and 2980 µL of buffer KH₂PO₄ – K₂HPO₄ with of 30 mmol.L⁻¹ of hydrogen peroxide were reacted and read in a spectrophotometer (Biochrom Spectrophotometer - Line Model S22) at 240 nm for 2 minutes. One unit of catalase activity was defined as the amount of extract capable of hydrolyzing 1 µmol of hydrogen peroxide (H₂O₂) per minute.

Glutathione peroxidase (GSH-Px) activity was assessed by NADPH oxidation, the enzyme extract was prepared according to Hoac et al. (2006). Five grams of sample were homogenized in Turrax with 20 mL buffer 80 mmol.L⁻¹ KH₂PO₄–K₂HPO₄ pH 7.6 containing 8 mmol.L⁻¹ EDTA and of 2 mmol.L⁻¹ glutathione reduced (60 s at 16,000 rpm in while being cooled on ice) and thus were centrifuged at 8,500 x g for 20 min at 4°C. The reaction was prepared as described to Moreira (2001), 200 µL of 250 mmol.L⁻¹ KH₂PO₄–K₂HPO₄ with 25 mmol.L⁻¹ EDTA pH 7.4, 2.73 µL of glutathione reductase (5U), 50 µL 40 mmol.L⁻¹ glutathione reduced incubated in a water bath at 37 °C for 10 min, were added 10 µL 20 mmol.L⁻¹ NADPH 20 mM (prepared in NaHCO₃ 0.1%), incubated again in a water bath at 37 °C for 2 min. The reaction initiated with addition of 20 µL of 15 mmol.L⁻¹ *t*-butil hydroperoxide. The spectrophotometric reading was made Biochrom Spectrophotometer (Line Model S22) at 340nm, every 1 min up to 5 min. One unit of GSH-Px activity was expressed in U.g⁻¹ and 1U was defined as the net amount of the enzyme capable of oxidizing 1 µmol of NADPH per min at 37 °C.

Superoxide dismutase (SOD) activity was evaluated according to Gatellier et al. (2004) by oxidation of Pyrogallol. For the enzyme extract, 5 g of samples were homogenized in Turrax with 10 mL of buffer 50 mmol.L⁻¹ KH₂PO₄ – K₂HPO₄ pH 7.0 (60 s at 16,000 rpm in while being cooled on ice) and centrifuged at 4 °C for 20 min at 8,500 x g. For the reaction, were added 1600 µL of buffer 50 mmol.L⁻¹ tris-cacodilate pH 8.2 with 1 mmol.L⁻¹ Diethylenetriaminepentaacetic, 200 µL of 10 mmol.L⁻¹ Pyrogallol (prepared in 10 mmol.L⁻¹ HCl) and 200 µL of enzyme extract. The reading was made a spectrophotometer at 340nm for 2 minutes. The SOD activity was expressed U.g⁻¹, one unit of SOD activity was defined as the amount of enzyme in each milliliter of the reaction solution at 50 % SOD inhibition.

2.5 Fatty acid profile

The lipids were extracted according to method of Bligh and Dyer (1959) with modifications. Transesterification of fatty acid was prepared according to the method 5509 of International Organization for Standardization (1978) using 2 mol.L⁻¹ KOH in methanol and n-heptane. Fatty acid methyl esters (FAME) were analyzed using a Shimadzu 14A (Japan) gas chromatograph equipped with a flame ionization detector and a fused silica capillary column (100 m x 0.25 mm) with 0.25 mm of CP Sil-88. The column temperature was programmed 65 °C for 15 minutes; 10 °C.min⁻¹ from 65 °C to 165 °C and maintained at 165 °C for 2 minutes, 4°C.min⁻¹ from 165 to 185 °C, and maintained at 185 °C for 8 minutes, 4°C.min⁻¹ from 185 °C to 235 °C and maintained at 235 °C for 5 minutes. The injection and detector temperatures were 200 and 220 °C, respectively. The split were 1:100. The carrier gas was hydrogen (1.2 mL.min⁻¹) and the make-up gas was nitrogen (30 mL.min⁻¹). The identification of fatty acids was based on authentic standards (Sigma) peak identification defined by comparison of retention times with FAME standards (Sigma). The peak areas were determined by integrator coupled to the CG-300 (CG Instruments, Brazil). The results were expressed as relative percentages of the fatty acids identified (Soares *et al.*, 2009).

2.6 Statistical Analysis

Statistical analysis were carried out using the STATISTICA for windows version 10.0. The data were submitted at analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey test at a 5 % probability level ($P \leq 0.05$) to compare three meat quality groups.

3 RESULTS

Broiler breast meat with color abnormality incidence is described in Figure 1. It was observed high PFN meat incidence (86.4 %) and relatively low PSE meat incidence (9.9 %).

The high incidence these meats in broiler chicken, possibly related to genetic changes and not to ante-mortem stress as occurs in PSE meat, which present low initial pH (Table 1). Both pH_{2h} and pH_{24h} values in PSE meat samples presented the values lowest, while the PFN samples had intermediate pH values (Table 1). The L* values, which expressed the meat brightness, were highest in the PSE and PFN groups. The PFN samples presented more yellowish than Normal and PSE samples, while a* values did not show any significant difference among three groups.

PSE meat samples presented higher drip loss values and lower WHC values when compared to PFN samples (Table 1). These two analyzes are directly related, because the lower the meat's ability to retain water, the greater the drip loss. The functional properties of the proteins can be affected in the post-mortem glycolysis process due to the rapid drop in pH

while the carcass is still high temperature, based on the results obtained, it can be observed that PFN samples maintained better their capacity to retain water.

The shear force (SF) in nature samples and cooked samples did not differ among three groups (Table 1). The greater the strength required, the lower the softness of this meat. The results showed that the softness remained the like in the three groups, still PSE meat presenting lower CRA.

The lipid oxidation in PFN, PSE and Normal broiler breast meat samples were presented in Table 2. The PSE meat presented 56% more lipid oxidized than PFN and Normal meat samples. The lipid oxidation were more pronounced in PSE poultry meat as a consequence of increased activity of the enzyme PLA₂. These lipid oxidation values are still too low to be sensorially perceptible.

The GSH-Px and catalase did not differ among three meat groups (Table 2). The SOD activity was lower in PSE meat when compared to Normal meat samples, probably due to high oxidative stress in PSE meat and also to inactivation of antioxidant enzymes during fast pH decline. The reduction of antioxidants enzymes associated with higher PLA₂ activity in PSE meat promotes lipid peroxidation as observed in Table 2.

In relation to fatty acid profile (Table 3), only the total saturated fatty acid (SFA) and ω6 were significantly different among three groups. The SFA were highest for PSE meat samples and ω6 were lower for PSE samples when compared to PFN and Normal samples. These changes in fatty acid profile occurred due to lower SOD activity and consequently higher lipid oxidation in PSE meat. Another factor that can interfere in the composition of fatty acids is the composition of the poultry feed.

4 DISCUSSION

The incidence the PFN and PSE meat were similar to results describe by Kaminishikawahara et al. (2016) for broiler breast meat, that found the incidence of 85.7% for PFN meat and 9.1% for PSE meat. In this study, most samples had pale color (96.3%), Dokmanovic et al. (2014) for pork meat found that 49% of carcasses had pale color. It is problem for poultry industries causing economic losses regarding meat color is one of the main indicators of quality evaluated by consumers (Garcia et al., 2010).

The results demonstrated that faster pH decline in PSE meat (Barbut et al., 2008, Lesiow and Xiong, 2013) which did not occurred in PFN meat. The L* values is often used as a descriptor of PSE chicken meat since it is directly affected by pH and myofibrillar protein denaturation (Barbut, 2008). The paleness of PFN has not relationship with pH, the same was observed for pork meat (Faucitano et al., 2010; Dokmanovic et al., 2014).

The lower water holding capacity is as result of the rapid pH fall while the carcass is still warm, inducing the myofibrillar protein denaturation (Olivo et al., 2001; Barbut et al., 2008). Van Laack et al. (1994) described that WHC and brightness are determined by independent pre-rigor biological phenomena, strengthening the argument that brightness is not necessarily a reliable predictor of WHC, therefore the L* values alone should not be used to predict the meat quality. Kazemi et al. (2011), evaluating protein denaturation in pork longissimus muscle, reported the PFN samples indicated the pale muscle color in this group might be due to denaturation of some sarcoplasmic proteins.

The tenderness of PSE meat is complex, Wilhelm et al. (2010) stating that the lower SF value was due to the earlier activation of calpain in PSE meat samples in a pre-rigor conditions. In addition, some authors reported that inactivation of calpains was due to its early autolysis (Goll et al., 2003; Wilhelm et al., 2010), which probably contributed to the increase of SF. Thus, the tenderness of meat depends on the conditions the experiments were carried

out. Garcia et al. (2010) also did not observed difference between PSE and Normal broiler breast meat.

In relation to lipid oxidation, similar results were reported by Carvalho et al (2017) and Soares et al (2009). This higher lipid oxidation in PSE meat samples is due to PLA₂ activity, which was considered the triggering factor of PSE syndrome occurrence (Soares et al., 2003; Cheah et al., 1986). The PLA₂ catalyzes the hydrolysis of membrane phospholipids damages the cell integrity leading to drip formation (Lambert et al., 2001). Lipid oxidation in meat usually leads to a deterioration in quality, in the muscle there are endogenous antioxidant enzymes that are able to prevent lipid oxidation in living tissue (Lauridsen et al., 1999).

The activity result of the antioxidant enzymes of this study were similar to some authors. Hernández et al. (2004) also did not found difference in GSH-Px and catalase activities among different genotypes pigs. The role of these enzymes in post-mortem muscle tissues is not completely know (Bekhit et al., 2013). Moreover there are little studies that relate activity of antioxidant enzymes in PSE meat and there aren't information regarding these enzymes in PFN meat. Carvalho et al (2017) and Chen et al (2010) reported a reduction of the activities of GSH and catalase in PSE broiler breast meat and pork meat, respectively. However Sarraga et al (2002) reported higher GSH activity in PSE pork meat than in normal meat. The activity of the antioxidant enzymes in this study will probably be influenced by pH and low lipid oxidation, result in non-significant amounts.

CONCLUSION

PFN meat, despite similarities with normal meat, can be considered a new category of broiler breast meat that features different characteristics of PSE meat, such as lower lipid oxidation and higher activity of the SOD enzyme. The color of the meat can directly influence the choice of the consumer, since the appearance is the first item evaluated at the time of purchase, however, more studies are necessary, since the luminosity of the PFN meat is not related to the pH.

ETHICS COMMITTEE

The Ethics Committee and Animal Welfare (CEUA/UEL) - (CEUA n ° 3157.2016.14), approved this study (Annex 1).

ACKNOWLEDGMENT

This work was funded by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)/Fundação Araucária.

REFERENCES

- Barbut, S., Sosnicki, A.A., Lonergan, S.M., Knapp, T., Ciobanu, D.C., Gatcliffe, L.J., Wilson, E.W. (2008). Progress in Reducing the Pale, Soft and Exudative (PSE) Problem in Pork and Poultry Meat. *Meat Science*, 79, 46-63.
- Bekhit, A.E.D.A., Hopkins, D.L., Fahri, F.T., Ponnampalam, E.N. (2013). Oxidative processes in muscle systems and fresh meat: sources, markers, and remedies. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 12, 565-597.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry Physiology*, 31, 911-917.
- Carvalho, R.H., Ida, E.I., Madruga, M.S., Martínez, S.L., Shimokomaki, M., Estéves, M. (2017) Underlying connections between the redox system imbalance, protein oxidation

- and impaired quality traits in pale, soft and exudative (PSE) poultry meat. *Food Chemistry*, 215, 129-137.
- Cassens, R.G., Kauffman, R.G., Scherer, A., Meeker, D.L. (1992). Variation in pork quality: A 1991 USA survey. In *Proceedings of the 38th international congress of meat science and technology (ICoMST)*, 23-28 August, Clermont-Ferrand, France, 237-240.
- Chan, K.M., Decker, E.A. (1994). Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34, 403-426.
- Cheah, K.S., Cheah, A.M., Waring, J.C. (1986). Phospholipase A₂ Activity, Calmodulin, Ca²⁺ and Meat Quality in Young and Adult Halothane-Sensitive and Halothane-Insensitive British Landrace Pigs. *Meat Science*, 17, 37-53.
- Chen, T., Zhou, G. H., Xu, X.L., Zhao, G. M., Li, C. B. (2010) Phospholipase A₂ and antioxidant enzyme activities in normal and PSE pork. *Meat Science*, 84, 143-146.
- Decker, E.A., Xu, Z. (1998). Minimizing Rancidity in Muscle Foods. *Food Technology*, 52, 54-59.
- Dokmanovic, M., Velarde, A., Tomovic, V., Glamoclija, N., Markovic, R., Janjic, J. Baltic, M.Z. (2014) The effects of lairage time and handling procedure prior to slaughter on stress and meat quality parameters in pigs. *Meat Science*, 98, 220-226.
- Faucitano, L., Ielo, M.C., Ster, C., Lo Fiego, D.P., Methot, S. Saucier, L. (2010). Shelf Life of Pork from Five Different Quality Classes. *Meat Science*, 84, 466-469.
- Garcia, R.G., Freitas, L.W., Schwingel, A.W., Farias, R.M., Caldara, F.R., Gabriel, A.M.A. et al. (2010). Incidence and Physical Properties of PSE Chicken Meat in a Commercial Processing Plant. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 12, 233-237.
- Gatellier, P., Mercier, Y., Renerre, M. (2004). Effect of Diet Finishing Mode (Pasture or Mixed Diet) on Antioxidant Status of Charolais bovine Meat. *Meat Science*, 67, 385-394.
- Goll, D.E., Thompson, V.F., Li, H., Wei, W., Cong, J. (2003). The Calpain System. *Physiological Reviews*, 83, 731-801.
- Hamm, R. (1960). Biochemistry of Meat Hydration. *Advances in Food Research*, 10, 335-362.
- Hernández, P., Zomeño, L., Arinõ B., Blasco, A. (2004). Antioxidant, Lipolytic and Proteolytic Enzyme Activities in Pork Meat from Different Genotypes. *Meat Science*, 66, 525-529.
- Hoac T., Daun, C., Trafikowska, U., Zackrisson, J., Akesson, B. (2006). Influence of Heat Treatment on Lipid Oxidation and Glutathione Peroxidase Activity in Chicken and Duck Meat. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 88-93.
- Honikel, K.O. (1998). Reference Methods for the Assessment of Physical Characteristics of Meat. *Meat Science*, 49, 447-457.
- Iso (1978). Animal and vegetable fats and oils. Preparation of methyl esters of fatty acids. Method 5509. Geneva: International Organization for standardization, 1-6.
- Kaminishikawahara, C. M., Mendonça, F.J., Grespan, M., Bracarense, A.P.F.R.L., Ida, E.I., Shimokomaki, M., Soares, A.L. (2016). Pale. Firm and Non-exudative (PFN): An Evidence Of An Emerging Major Broiler Breast Meat Color Group. 18th International Conf. on Agricultural Sci. and Food Engineering.
- Kauffman, R.G., Van Laack R.L.J.M., Russell R.L., Pospiech, E., Cornelius, C.A., Suckow, C.E., Greaser, M.L. (1998) Can pale, soft, exudative pork be prevented by postmortem sodium bicarbonate injection? *Journal of Animal Science* 76, 3010-3015.
- Kazemi, S., Ngadi, M.O., Gariépy, C. (2011). Protein Denaturation in Pork Longissimus Muscle of Different Quality Groups. *Food Bioprocess Technology*, 4, 102-106.

- Kim, T.W., Kim, I., Ha, J., Know, S.G., Hwang, J.H., Park, D.H. et al. (2017). Comparison among meat quality classes according to the criteria of post-mortem pH_{24hr}, drip loss and color in Berkshire pigs. *Indian Journal Animal Res.*, 51, 182-186.
- Lambert, T.H., Nielsen, J.H., Andersen, H.J., Ortenblad, N. (2001). Cellular model for induction of drip loss in meat. *Journal of Agriculture. Food and Chemistry*, 49, 4876-4883.
- Langer, R.O.D.S., Simões, G.S., Soares, A.L., Oba, A., Rossa, A., Shimokomaki, M., Ida, E.I. (2010). Broiler transportation conditions in a Brazilian commercial line and the occurrence of breast PSE (Pale, Soft, Exudative) meat and DFD-like (Dark, Firm, Dry) meat. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53, 1161-1167.
- Lauridsen, C., Nielsen, J.H., Henckel, P., Sorensen, M.T. (1999). Antioxidative and oxidative status in muscles of pigs fed rapeseed oil, vitamin E, and copper. *Journal of Animal Science*, 77, 105-115.
- Lesiów, T., Xiong, Y.L. (2013) A simple, reliable and reproductive method to obtain experimental pale, soft and exudative (PSE) pork. *Meat Science*, 93, 489-494.
- Li, K., Chen, L., Zhao, Y.Y., Li, Y., Wu, N., Sun, H. et al. (2015). A comparative study of chemical composition, color, and thermal gelling properties of normal and PSE-like chicken breast meat. *Journal of Food*, 13, 213-219.
- Liu, L.L., He, J.H., Xie, H.B., Yang, Y.S., Li, J.C., Zou, Y. (2014). Resveratrol induces antioxidant and heat shock protein mRNA expression in response to heat stress in black-boned chickens. *Poultry Science*, 93, 54-62.
- Mahecha, L., Nuernberg, K., Nuernberg, G., Martin, J., Hubbermann, E. M., Knoeller, S., Dannenberger, D. (2011). Antioxidant enzyme activities and antioxidant capacity in longissimus muscle from bulls fed diets rich in polyunsaturated fatty acids. *Food Chemistry*, 127, 379-386.
- Moreira, J., Santos, C.D., Abreu, C.M.P., Bertechini, A.G., Oliveira, D.F., Cardoso, M.G. (2001). Efeito de Fonte e Níveis de Selênio na Atividade Enzimática da Glutathione Peroxidase e no Desempenho de Frangos de Corte. *Ciência Agrotecnologia*, 25, 645-649.
- Olivo R., Soares, A.L., Ida, E.I., Shimokomaki, M. (2001). Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional proprieties. *Journal of Food Biochemistry*, 25, 271-283.
- Sárraga, C., Carreras, I., García, J.A. (2002). Influence of meat quality and NaCl percentage on glutathione peroxidase activity and values for acid-reactive substances of raw and dry-cured *Longissimus dorsi*. *Meat Science*, 62, 503-507.
- Soares, A.L.; Lara, J.A.F.; Ida, E.I.; Guarnieri, P.D.; Olivo, R.; Shimokomaki, M. (2002). Variation in the Colour of Brazilian Broiler Breast Fillet. *Proceedings: International Congress of Meat Science Technology, Roma*, 48, 540-541.
- Soares, A. L., Ida, E.I., Miyamoto, S., Hernández-Blasques, F.J., Olivo, R., Pinheiro, J.W., Shimokomaki, M. (2003). Phospholipase A₂ Activity in Poultry PSE, Pale, Soft, Exudative. *Journal Food Biochemistry*, 27, 309-319.
- Soares, A.L., Marchi, D.F., Matsushita, M., Guarnieri, P.D., Droval, A.A., Ida, E.I., Shimokomaki, M. (2009). Lipid Oxidation and Fatty Acid Profile Related to Broiler Breast Meat Color Abnormalities. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 52, 1513-1518.
- Spúrio, R.S., Soares, A.L., Carvalho, R.H., Silveira Junior, V., Grespan, M., Oba, A., Shimokomaki, M. (2016). Improving transport container design to reduce broiler chicken PSE (pale, soft, exudative) meat in Brazil. *Animal Science Journal*, 87, 277-283.

- Terevinto, A., Ramos, A., Castroman, G., Cabrera, M. C., Saadoun, A. (2010). Oxidative status, in vitro iron-induced lipid oxidation and superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rhea meat. *Meat Science*, 84, 706-710.
- Tarladgis, B.G., Pearson, A.M., Dugan, R. (1964). Chemistry of the 2-thiobarbituric test for determination of oxidative rancidity in foods: II Formation of the TBA-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. *Journal of Food Science and Agriculture*, 5, 602-604.
- Van Laack, R.L.J., Kauffman, R.G., Sybesma, W., Smulders, F.J.M., Eikelenboom, G., Pinheiro, J.C. (1994). Is Colour Brightness (*L*-Value) a Reliable Indicator of Water-Holding Capacity in Porcine Muscle. *Meat Science*, 38, 193-201.
- Wilhelm, A.E., Magnhini, M.B., Hernández-Blazquez, F.J., Ida, E.I., Shimokomaki, M. (2010). Protease activity and the ultrastructure of broiler chicken PSE (*Pale, Soft, Exsudative*) meat. *Food Chemistry*, 119, 1201-1204.

FIGURE 1. INCIDENCE OF BROILER BREAST MEAT WITH COLOR ABNORMALITY.

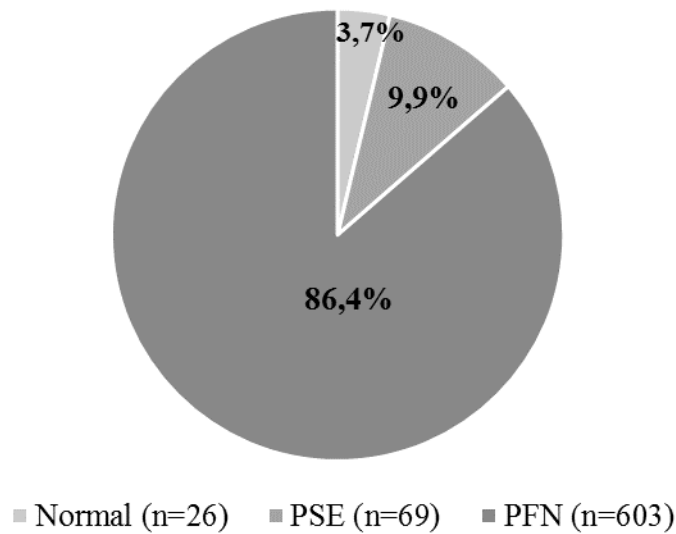


TABLE 1. MEASUREMENTS OF pH, COLOR, WATER-HOLDING CAPACITY (WHC) DRIP LOSS AND TEXTURE IN PFN, PSE AND NORMAL BROILER BREAST MEAT SAMPLES

	Normal	PSE	PFN
pH_{2h}	6.12±0.20 ^a	5.80±0.16 ^b	6.08±0.17 ^a
pH_{24h}	6.04±0.10 ^a	5.71±0.06 ^c	5.97±0.10 ^b
L*	51.87±1.26 ^c	58.60±2.31 ^a	56.45±1.88 ^b
a*	3.81±1.12 ^a	2.80±1.26 ^a	3.09±1.58 ^a
b*	8.22±2.44 ^b	7.68±2.73 ^b	9.51±2.11 ^a
WHC	67.49±2.51 ^{ab}	65.30±2.01 ^b	69.39±1.74 ^a
DL (%)	2.09±0.91 ^b	2.75±0.82 ^a	2.27±0.83 ^b
SF in nature samples (N)	15.81±2.87 ^a	14.88±2.67 ^a	16.22±2.63 ^a
SF cooked samples (N)	25.25±3.94 ^a	23.26±2.18 ^a	23.57±1.12 ^a

Means followed by different letters on the same line differ by a Tukey at the 5% significance level (P<0.05).

DL-Drip Loss

TABLE 2. LIPID OXIDATION AND THE ANTIOXIDANT ENZYMES IN PFN, PSE AND NORMAL BROILER BREAST MEAT SAMPLES

	Normal (n=15)	PSE (n=15)	PFN (n=15)
TBARS (mg.kg⁻¹ samples)	0.06±0.01 ^b	0.09±0.04 ^a	0.06±0.01 ^b
GSH-Px (U.g⁻¹)	0.46±0.11 ^a	0.50±0.05 ^a	0.49±0.13 ^a
Catalase (U.g⁻¹)	0.09±0.03 ^a	0.12±0.07 ^a	0.13±0.06 ^a
SOD (U.g⁻¹)	2.57±1.06 ^a	1.68±0.61 ^b	2.24±0.62 ^{ab}

Means followed by different letters on the same row differ by a Tukey at the 5% significance level (P<0.05). SF- Shear Force; TBARS (thiobarbituric acid reactive substances); GSH-PX – glutathione peroxidase; SOD - superoxide dismutase

TABLE 3. FATTY ACID COMPOSITION FOR PFN, PSE AND NORMAL BROILER BREAST MEAT SAMPLES

	Normal (n=15)	PSE (n=15)	PFN (n=15)
SFA	27.06±3.18 ^b	30.11±1.97 ^a	25.04±3.97 ^b
MUFA	41.44±2.66 ^a	40.43±4.15 ^a	43.11±3.70 ^a
PUFA	31.81±3.55 ^a	29.66±3.86 ^a	32.48±3.29 ^a
PUFA/SFA	1.27±0.39 ^a	1.05±0.28 ^a	1.39±0.42 ^a
ω6	28.19±3.43 ^{ab}	25.53±3.14 ^b	28.74±3.18 ^a
ω3	3.22±0.68 ^a	3.19±1.04 ^a	3.36±0.33 ^a
ω6/ω3	8.98±1.68 ^a	8.06±1.50 ^a	8.59±1.02 ^a

Means followed by different letters on the same row differ by a Tukey at the 5% significance level (P<0.05).

SFA – Saturated fatty acid; MUFA – Monounsaturated fatty acid; PUFA – Polyunsaturated fatty acid

5.2 ARTIGO CIENTÍFICO 2

Development of meat product based on chicken breast with liquid smoke using PSE (pale, soft, exudative) and PFN (pale, firm and non-exudative) breast meat

JULIANA NUNES DE ALMEIDA, FERNANDA JÉSSICA MENDONÇA·ELOÁ
CLARISMUNDO FERNANDES, MARGARIDA MASAMI YAMAGUCHI, SANDRA
HELENA PRUDENCIO, ADRIANA LOURENÇO SOARES

Development of meat product based on chicken breast with liquid smoke using PSE (pale, soft, exudative) and PFN (pale, firm and non-exudative) breast meat

*JULIANA NUNES DE ALMEIDA¹, FERNANDA JÉSSICA MENDONÇA¹, ELOÁ CLARISMUNDO FERNANDES¹, MARGARIDA MASAMI YAMAGUCHI², SANDRA HELENA PRUDENCIO¹, ADRIANA LOURENÇO SOARES¹

¹Department of Food Science and Technology, State University of Londrina, Rod. Celso Garcia Cid (PR 445), Km 380, Cx Postal 10.011, 86057-970, Paraná, Brazil

²Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Avenida dos Pioneiros, 3131, 86036-370, Paraná, Brazil

*juh.nunes@gmail.com, fernanda.mendonca@live.com, elooafernandes@gmail.com, mmyamaguchi@utfpr.edu.br, sandrah@uel.br, adri.soares@uel.br

Abstract The objective of this work was to evaluate the use of PFN and PSE breast meat in the development of meat product and its physicochemical and sensorial characteristics. Breast meat from a commercial plant were classified into three categories: Normal (pH > 5.80 and L* < 53.0), PSE-pale, soft, exudative (pH ≤ 5.80 and L*_{24h} ≥ 53.0) and PFN-pale, firm and non-exudative (pH > 5.80 and L* ≥ 53.0). The chicken breast meat were prepared with injection of 20% of brine, in relation to weight meat, using liquid smoke, following tumbled, cured and cooked. The chicken breasts were evaluated by proximate composition, color, water activity, lipid oxidation, texture profile and sensorial analysis. The data were submitted at analysis of variance followed by the Tukey test at a 5% probability. The PSE meat processed product presented lower moisture when compared to PFN and Normal samples. The lipid oxidation did not differ among three groups. The PFN products were most affected for mechanical properties mainly for hardness and chewiness corroborating with sensory analysis. Although the PFN and PSE breast meat presented color abnormality and PSE meat had poor functional properties, it is feasible to use them for elaborate chicken meat with quality similar to normal meat.

Keywords Lipid oxidation · Texture profile analysis · Sensorial analysis

Introduction

PSE (pale, soft, exudative) meat occurrence has important economic implications, is recognized as a major economic risk factor for fresh and processed chicken and turkey meat (Carvalho et al 2014, Barbut et al 2008, Kissel et al 2009). PSE conditions result from denaturation of myofibril proteins caused by rapid glycolysis post-mortem (Olivo et al 2001). The use of starch and carrageen has been reported to improve functional properties of PSE meat and its application on meat products (Kissel et al 2009, Barbut 2008, Daigle et al 2005).

PSE meat biggest issue is the poor water holding capacity (WHC) due to protein denaturation, which decreases yield of product and increases hardness besides the color abnormality (Carvalho et al 2014, Kissel et al 2009).

Recently, a new category of poultry meat quality was suggested a PFN (Pale, Firm, Non-exudative) (Kaminishikawahara et al 2016). This meat is characterized by light appearance but a good WHC (Kauffman et al 1992, Van Laack et al 1994; Dokmanovic et al 2014). Kaminishikawahara et al (2016) described that PFN broiler breast meat presented lower

cooking loss and higher shear force in fresh meat than PSE meat and Almeida et al (2017) observed that PFN breast meat as similar to Normal meat in relation to lipid oxidation and antioxidant enzymes activities. To our knowledge, there isn't information in the scientific literature regarding the use of PFN breast meat in development of products meats and its characteristics.

Smoking is one of the oldest technological processes. On conventional process, products are exposed to all the components of the smoke, desirable or not. Liquid smoke application presents greater uniformity of flavor and color on products and low concentration of undesirable compounds as polyaromatic hydrocarbons (3,4-benzo(a)pyrene) produced during combustion (Gonçalves and Hernández 1998).

The objective of this work was to evaluate the use of PFN and PSE breast meat in development meat product using liquid smoke and evaluation physicochemical and sensory characteristics.

Materials and Methods

Meat samples

Fillet meat (*Pectoralis major* m.) samples were obtained from 42-day old broilers from a commercial plant located on south region of Brazil. The animals were slaughtered according standard industrial practices and essentially consisted of electrical stunning, bleeding, defeathering, evisceration, water-cooling the carcass, deboning and refrigeration. The length of time from slaughtering to samples collection was about 2 hours.

Sample Classification

The fillet samples (n=191) were then classified into PSE, PFN and Normal meat as described Kaminishikawahara et al (2016), where PSE meat ($\text{pH} \leq 5.80$ and $L^*_{24h} \geq 53.0$), PFN meat ($\text{pH} > 5.80$ and $L^* \geq 53.0$) and Normal meat ($\text{pH} > 5.80$ and $L^* < 53.0$). A Minolta CR400 colorimeter was used to evaluate the color (L^* , a^* , b^*) of the posterior surface of intact skinless breast muscle at 24 h post-mortem. The L^* , a^* and b^* values were measured at three different sites on the same sample: the proximal extremity of muscle, the distal extremity of the muscle and the medial side half-way between the proximal and distal extremities (Soares et al 2003). The pH were measured at 2 h and 24 hours post-mortem by inserting electrodes into the meat samples using a portable pH meter (Testo 205), as reported in Olivo et al (2001).

Development of meat product based on chicken breast with liquid smoke

Breast fillet meat were divided into 3 treatments groups: Normal, PSE and PFN. The 20% of brine was injected in meat samples, in relation to weight meat in each group. The final concentration of the ingredients in the product were: water (12.17 %), salt (2.3 %), isolated soy protein (0.83 %), tripolyphosphate (0.5 %), sugar (0.25 %), liquid smoke (0.18 %), sodium eritorbate (0.15 %), spices (0.13 %), sodium glutamate (0.10 %), nitrate (0.03 %), nitrite (0.01%). After injection, the samples were tumbled for 1 h, in vacuum tumbler, and were cured for 24 h at 4 °C. The samples were again tumbled for 1 h and then were vacuum packed (with final weight \pm 950 g of chicken breast plus brine), with four replicates per treatment. The packaged product was putted into forms for ham production, sealed and placed in a water bath for cooking until internal temperature arrive at 75 °C and cooled in tap water. The products were stored at 4 °C for 60 days.

Proximate composition analysis and Aw

The proximate composition analysis was evaluated using the AOAC Analytical Methods (AOAC 2006a, b, c, d) as follows: Moisture (Method 950.46), Protein (Method 992.15), Total fat (Method 960.39), and Ash Determination (Method 942.05). All analyses were carried out in triplicate. The Aw was measured using the Aqualab Dew Point 4 tev.

Color measurement

Minolta CR400 colorimeter (D65 illuminant) was used to evaluate color on the internal part of product. The results were expressed in L*, a* and b* of CIELAB system. The color was measured in ten different points (n=10). A numerical total color difference (ΔE) was calculated by: $\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ which indicates the difference in color during storage.

Lipid oxidation

Lipid oxidation was assessed using TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) as described by Tarladgis, Pearson and Dugan (1964). The TBARS values were expressed as milligrams of TBARS per kilogram of product. Briefly, 20 g of samples was blended with 98 mL of distilled water and 2.5 mL of HCl 4 mol.L⁻¹, 2.0 mL of sulfanilamide 0.5 % in HCL 20 % and defoamer. This solution was distilled for 10 min. and were collected 50 mL, 5 mL of distilled was reacted with 5 mL of 0.02 mol.L⁻¹ of TBA, heated for 35 minutes at 100 °C (water bath), cooled, and the concentration was spectrophotometrically measured at 535 nm. Tetraethoxypropane was used as the standard.

Mechanical properties measurement

The texture profile was analyzed in Texturometer Universal Stable Micro System TA.XT plus with probe P035. The parameters of mechanical properties was hardness, springiness, cohesiveness, adhesiveness and chewiness (chewiness = hardness x cohesiveness x springiness) as described by Civille and Szczesniak (1973). Samples (n=10) were cut into cylinders (3 cm in diameter and 2.2 cm long). The cylinders samples were compressed (0.98 N) to 50 % of deformation.

Sensory analysis

Sensorial evaluation was conducted with the three groups of products elaborated: Normal, PFN and PSE on the 24 h of storage at 4 °C. The ranking test was used with sensory panel consisted in 80 untrained assessors who were habitual consumers of meat similar products: ham, smoked turkey meat and smoked chicken meat. The three treatments were coded with 3-digit numbers and served in cubes at 8 °C in plastic plate, all samples at same time, in random order. The assessors evaluated the samples in ascending order of intensity in relation to following characteristics: color, hardness, juiciness. They also indicated the frequency of consumption of the following similar products: ham, smoked turkey breast and smoked chicken breast. The data were submitted to statistical analysis determining the significant critical difference between the ordering totals at the 5% probability level, according to Christensen et al (2006). The percentage of consumption frequency of each similar product was also calculated. The project was approved by the Ethical Conduct in Research Involving Human Beings Committee from the Londrina State University, through CAAE n°

61383716.3.0000.5231 (Annex 2). The safety of the products was ensured through microbiological analyzes according to RDC 12 de 2001 (Brazil 2001).

Statistical Analysis

Statistical analysis were carried out using the STATISTICA 10.0 program. The data were submitted at analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey test at a 5% probability level to compare three groups

Results and Discussion

PSE, PFN and Normal samples

Fillets classified (n=191) according to pH and color with 24 h post-mortem are shown in Table 1. The PSE meat had a lower pH and higher pH decline rate as consequence of rapid post-mortem muscle glycolysis (Olivo et al 2001, Barbut 2008). The association of low meat pH and warm temperature of carcass promoted denaturation of myofibril proteins compromising the meat functional properties (Sosnicki et al 1998). On PFN meat samples did not observe the accelerate rate of pH decline and the pale is not consequence of protein denaturation (Van Laack et al 1994). Really, these meat presented water holding capacity and drip loss similar to the Normal meat (Kaminishikawahara et al 2016; Almeida et al 2017). Values of a* and b* did not differ among breast meat groups.

Table 1 Means values of L*, a*, b* and pH in PSE, PFN and Normal breast meat fillets

	NORMAL	PSE	PFN
pH _{24h}	5.94 ± 0.08 ^a	5.70 ± 0.06 ^c	5.88 ± 0.07 ^b
L*	51.66 ± 0.99 ^c	57.65 ± 2.09 ^a	56.11 ± 1.82 ^b
a*	2.52 ± 0.81 ^a	2.18 ± 1.37 ^a	2.19 ± 0.82 ^a
b*	6.80 ± 1.50 ^a	7.79 ± 1.71 ^a	7.25 ± 1.88 ^a

^{a-b-c} Means followed by different letters in the same line differ significantly by Tukey's test at the level of 5.0 % of probability

The PSE meat processed product presented lower moisture when compared to PFN and Normal samples (Table 2) due to protein denaturation caused by rapid glycolysis in PSE meat which results in shrinkage of the fibers retains less moisture. The PFN and Normal product presented similar values of moisture corroborating that functional meat properties in PFN samples are not affected. The fat content differed among three products PSE product presented high value, PFN intermediary values and normal product low values. The fat content changes proportionally in relation to the moisture and protein contents. The PSE product presented lower ash content when compared to PFN and Normal product, probably this lower content is related to higher loss of exudate from PSE samples.

The use of soy protein, starch, and carrageenan as ingredients in meat product has been reported for improves some of the functional properties of meat product. Daigle et al (2005) reported that addition of soy protein concentrate or carrageenan or collagen improves the cooking loss of chunked and formed deli roll of turkey meat. Kissel et al (2009) described that cassava starch, isolated soy protein and sodium tripolyphosphate increases emulsion stability and water holding capacity of mortadella produced with PSE chicken breast meat. However Carvalho et al (2014) found that smoked turkey meat elaborates with PSE meat had lower moisture and yield similar result obtained in our study where ingredients are not capable of changing functional properties of the product.

Table 2 Proximate composition of the product elaborated with chicken breast Normal, PSE and PFN (n=3).

	NORMAL	PSE	PFN
Moisture (%)	71.36 ± 0.18 ^a	70.81 ± 0.07 ^b	71.27 ± 0.17 ^a
Protein (%)	21.28 ± 0.64 ^a	20.60 ± 0.46 ^a	21.01 ± 2.60 ^a
Fat (%)	3.83 ± 0.11 ^c	4.83 ± 0.07 ^a	4.23 ± 0.14 ^b
Ash (%)	3.41 ± 0.01 ^a	1.82 ± 0.18 ^b	3.41 ± 0.02 ^a

^{a-b-c} Means followed by different letters in the same line differ significantly by Tukey's test at the level of 5.0% of probability

At 2 days of storage, only b* values differed among three products (Table 3), PFN samples presented less yellowish when compared to PSE and Normal samples. The use of nitrite and nitrate in the formulation change de color of the meat contributing for PFN and PSE samples had similar color. At 30 days of storage, the product prepared with PSE meat presented higher water activity when compared to Normal product, as consequence of protein denaturation and lower water holding capacity this meat. At 60 days of storage observe difference among three products for b* and Aw. PSE sample presented more yellowed when compared to PFN, while PFN presented more Aw to Normal and PSE.

The total color difference (ΔE) did not differ among products and during time of storage (Table 3). The total color difference is perceptible to the human eye when the values are greater than 2 (Moarefian, Barzegar and Sattari 2013), in this study the values of total color difference varying from 3.17 to 3.66. Meat discoloration could be a problem for marketing once the color of meat product is one of the most important criterions of the consumers, but this problem occurred for three meat quality group not only for color meat abnormalities (PSE and PFN meat).

Table 3 Values of color, Aw and lipid oxidation of products developed with chicken breast Normal, PSE and PFN stored at 4 °C for 2, 30 and 60 days (n=10)

		NORMAL	PSE	PFN
L*	Time 2	79.12 ± 2.14 ^{aA}	78.41 ± 1.87 ^{aA}	79.41 ± 2.08 ^{aB}
	Time 30	79.35 ± 1.62 ^{bA}	79.96 ± 2.17 ^{bA}	81.92 ± 0.99 ^{aA}
	Time 60	77.99 ± 2.14 ^{aA}	80.10 ± 2.16 ^{aA}	80.28 ± 2.30 ^{aAB}
a*	Time 2	4.78 ± 1.24 ^{aA}	4.55 ± 1.12 ^{aA}	3.91 ± 0.79 ^{aB}
	Time 30	4.64 ± 0.76 ^{aA}	4.85 ± 1.22 ^{aA}	5.12 ± 0.95 ^{aA}
	Time 60	5.11 ± 1.28 ^{aA}	4.83 ± 0.99 ^{aA}	4.26 ± 1.27 ^{aAB}
b*	Time 2	11.20 ± 0.83 ^{aA}	11.89 ± 0.73 ^{aAB}	9.79 ± 1.16 ^{bA}
	Time 30	11.18 ± 1.16 ^{aA}	11.14 ± 1.25 ^{aB}	10.27 ± 0.58 ^{aA}
	Time 60	11.66 ± 0.97 ^{abA}	12.66 ± 0.99 ^{aA}	11.07 ± 1.60 ^{bA}
ΔE	Time 30	3.30 ± 1.62 ^a	3.58 ± 1.66 ^a	3.63 ± 1.25 ^a
	Time 60	3.37 ± 1.78 ^a	3.17 ± 1.35 ^a	3.66 ± 1.49 ^a
Aw	Time 2	0.968 ± 0.002 ^{aB}	0.969 ± 0.005 ^{aB}	0.970 ± 0.001 ^{aB}
	Time 30	0.974 ± 0.003 ^{bA}	0.980 ± 0.003 ^{aA}	0.976 ± 0.002 ^{abA}
	Time 60	0.973 ± 0.001 ^{bA}	0.973 ± 0.001 ^{bB}	0.976 ± 0.002 ^{aA}
Lipid oxidation	Time 2	0.09 ± 0.01 ^{aA}	0.09 ± 0.01 ^{aB}	0.10 ± 0.01 ^{aA}
	Time 30	0.10 ± 0.02 ^{aA}	0.11 ± 0.01 ^{aA}	0.09 ± 0.01 ^{aA}
	Time 60	0.10 ± 0.01 ^{aA}	0.09 ± 0.01 ^{aB}	0.10 ± 0.01 ^{aA}

^{a-b-c} Means followed by different letters in the same line differ significantly by Tukey's test at the level of 5.0 % of probability. ^{A-B-C} Means followed by different letters in the same column differ significantly by Tukey's test at the level of 5.0 % of probability. Aw = Water activity. Lipid oxidation = expressed in mg TBARS.kg⁻¹. ΔE = color difference

The lipid oxidation reactions were minimal in the products. The PSE meat presented more oxidized when compared to PFN and Normal meat (Soares et al 2009, Kaminishikawahara et al 2016 and Almeida et al 2017) however in this study did not observed a higher lipid oxidation in PSE meat products due to addition of sodium erythorbate and vacuum package.

During the storage, the products elaborated with PSE and PFN fillets suffered more interference than Normal. There was oscillation in the b^* values, A_w and lipid oxidation of the PSE samples, while in PFN samples, the L values, a^* and A_w they suffered greater interference from storage.

Table 4 presented mechanical properties for meat product. At 2 days of storage, the product elaborated from PFN samples presented higher values of hardness and chewiness when compared to Normal and PSE products. At 30 days of storage the cohesiveness values was higher for PSE product and the springiness was lower for Normal product. At 60 days of storage, hardness and chewiness were higher for PFN samples when compared to Normal and PSE products. The changes in adhesiveness were more noticeable in this period.

The PFN products were most affected for mechanical properties mainly for hardness and chewiness which characteristics more noticeable for consumers although PSE products presented lower moisture (Table 2). The PSE product also presented higher fat value, which may explain the lower hardness, really, Ruiz-Carrascal et al (2000) reported the negative correlation between hardness and fat content for ham. The improvement of texture is possible through use of the texture coadjuvants, however those additives were not added to our products, only isolated soy protein.

Table 4 Mechanical properties of products developed with chicken breast Normal, PSE and PFN stored at 4 °C for 2, 30 and 60 days (n=10)

		NORMAL	PSE	PFN
Hardness	Time 2	64.76 ± 5.66 ^{bB}	67.44 ± 11.13 ^{bAB}	91.16 ± 7.75 ^{aA}
	Time 30	93.07 ± 7.46 ^{aA}	79.10 ± 12.57 ^{aA}	85.09 ± 14.97 ^{aA}
	Time 60	55.00 ± 3.75 ^{bC}	60.95 ± 8.93 ^{abB}	67.44 ± 9.63 ^{aB}
Cohesiveness	Time 2	0.39 ± 0.03 ^{aA}	0.39 ± 0.06 ^{aB}	0.38 ± 0.05 ^{aA}
	Time 30	0.40 ± 0.06 ^{bA}	0.52 ± 0.07 ^{aA}	0.40 ± 0.04 ^{bA}
	Time 60	0.40 ± 0.04 ^{abA}	0.36 ± 0.05 ^{bB}	0.41 ± 0.03 ^{aA}
Springiness	Time 2	0.81 ± 0.05 ^{aA}	0.81 ± 0.04 ^{aAB}	0.82 ± 0.08 ^{aA}
	Time 30	0.75 ± 0.05 ^{bA}	0.84 ± 0.03 ^{aA}	0.81 ± 0.02 ^{aA}
	Time 60	0.72 ± 0.09 ^{aA}	0.76 ± 0.07 ^{aB}	0.75 ± 0.07 ^{aA}
Chewiness	Time 2	19.43 ± 2.74 ^{bB}	20.44 ± 4.14 ^{abB}	28.13 ± 8.65 ^{aA}
	Time 30	29.23 ± 6.60 ^{aA}	30.34 ± 4.47 ^{aA}	24.74 ± 3.42 ^{aAB}
	Time 60	14.75 ± 1.44 ^{bB}	13.36 ± 1.62 ^{bC}	20.42 ± 4.94 ^{aB}
Adhesiveness	Time 2	-3.30 ± 2.63 ^{aA}	-2.70 ± 2.27 ^{aA}	-6.31 ± 2.58 ^{aA}
	Time 30	-1.98 ± 1.41 ^{aAB}	-3.78 ± 1.93 ^{aA}	-2.15 ± 1.74 ^{aB}
	Time 60	-1.01 ± 0.70 ^{bB}	-1.59 ± 1.49 ^{abA}	-2.41 ± 1.40 ^{aB}

^{a-b-c} Means followed by different letters in the same line differ significantly by Tukey's test at the level of 5.0% of probability. ^{A-B-C} Means followed by different letters in the same column differ significantly by Tukey's test at the level of 5.0% of probability.

Sensory analysis

67.9 % the assessors who participated in the sensory test were aged between 21-30 years; 51 % of participants the female gender. The evaluation of the frequency of consumption of smoked chicken breast and similar products (smoked turkey breast and ham) indicated that

more than 55% of the evaluators rarely consumed smoked chicken breast and smoked turkey breast, while 43% ate ham 2 to 3 times a week.

The product elaborated in this study is different from that produced by industry that using ground chicken meat and ordinarily traditional method of smoking. In our study was use whole breast meat fillet and liquid smoke. The objective of sensorial analysis was compared the products formulated with three meat category PSE, PFN and Normal. In relation to color, the PSE product differed from PFN and Normal samples, assessors reported the product as more pale. In relation to hardness, the PFN product was reported as the hardest, corroborating with hardness and chewiness evaluated by texturometer (Table 3). In relation to juiciness did not observed difference among three products although PSE products presented lower moisture value (Table 2). Droval et al. (2012) reported that assessors verified difference between PSE and Normal breast meat samples by acceptance test. Probably, the higher content of fat (4.83 %) masked the lower moisture (70.81 %) of PSE meat.

Conclusion

Although the PFN and PSE breast meat presented color abnormality and PSE meat had poor functional properties, it is viable to use them for elaborate meat product based on chicken breast with quality similar to normal meat.

Acknowledgment

This work was funded by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)/Fundação Araucária.

References

- Almeida JN, Dornellas T, Grespan M, Soares, AL (submitted) (2017) PFN (pale, firm and non-exudative) a new category broiler breast meat: antioxidant enzymes, biochemical parameters and comparison to PSE (pale, soft, exudative) meat
- AOAC Authors (2006) Official methods of analysis proximate analysis and calculations total fat meat - item 25. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, 17th edn. Reference data: method 960.39 (39.1.05); NFNAP; LIPD; FA
- AOAC Authors (2006) Official methods of analysis proximate analysis and calculations ash determination (Ash) - item 51. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, 17th edn. Reference data: method 942.05; MIN; ASH
- AOAC Authors (2006) Official methods of analysis proximate analysis and calculations crude protein meat and meat products including pet foods - item 80. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, 17th edn. Reference data: method 992.15 (39.1.16); NFNAP; NITR; NT
- AOAC Authors (2006) Official methods of analysis proximate analysis and calculations moisture (M) meat - item 108. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, 17th edn. Reference data: method 950.46 (39.1.02); NFNAP; WATER
- Barbut S, Sosnicki AA, Lonergan SM, Knapp T, et al (2008) Progress in Reducing the Pale, Soft and Exudative (PSE) Problem in Pork and Poultry Meat. *Meat Science*, 79:46-63. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.07.031
- Brasil, Ministério da Saúde (2001) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico de Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 10 de janeiro de 2001

- Carvalho RH, Soares AL, Honorato DCB, Guarnieri PD et al (2014) The incidence of pale, soft, and exudative (PSE) turkey meat at a Brazilian commercial plant and the functional properties in its meat product. *LWT – Food Science Technology*, 59:883-888. doi: 10.1016/j.lwt.2014.07.019
- Civille GV, Szczesniak AS (1973) Guidelines to training a texture profile panel. *Journal of Texture Studies* 4:204-223. doi: 10.1111/j.1745-4603.1973.tb00665.x
- Christensen ZT, Ogden LV, Dunn ML, Eggett DL (2006) Multiple comparison procedures for analysis of paired data. *Journal Food Science*, 71:S132-S143. doi: 10.1111/j.1365-2621.2006.tb08916.x
- Daigle SP (2005) PSE poultry breast enhancement through the utilization of poultry collagen, soy protein, and carrageenan in a chunked and formed deli roll. *Thesis*. Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia
- Dokmanovic M, Velarde A, Tomovic V, Glamoclija N et al (2014) The effects of lairage time and handling procedure prior to slaughter on stress and meat quality parameters in pigs. *Meat Science*, 98:220-226. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.06.003
- Droval AA, Benassi VT, Rossa A, Prudencio SH et al (2012) Consumer attitudes and preferences regarding pale, soft, and exudative broiler breast meat. *Poultry Science* 21:502-507. doi: 10.3382/japr.2011-00392
- Gonçalves AA, Hernández CP (1998) Defumação líquida de Anchova (*Pomatomus saltatrix*): Efeito do processamento nas propriedades químicas e microbiológicas *Food Science and Technology* 18:438-443. doi: 10.1590/S0101-20611998000400016
- Kaminishikawahara CM, Mendonça FJ, Grespan M, Bracarense AP et al (2016) Pale, Firm and Non-exudative (PFN): An Evidence Of An Emerging Major Broiler Breast Meat Color Group. 18th International Conf. on Agricultural Sci. and Food Engineering, Tokyo, Japan
- Kauffman RG, Cassens RG, Scherer A, Meeker DL (1992) Variations in pork quality. Des Moines, IA: National Pork Producers Council.
- Kissel C, Soares AL, Rossa A, Shimokomaki M (2009) Functional Properties of PSE (*Pale, Soft, Exudative*) Broiler Meat in the Production of Mortadella. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52:213-217. doi: 10.1590/S1516-89132009000700027
- Moarefian M, Barzegar M, Sattari M (2013) *Cinnamomum zeylanicum* essential oil as a natural antioxidant and antibacterial in cooked sausage. *Journal of Food Biochemistry* 37:62-69. Doi: 10.1111/j.1745-4514.2011.00600.x
- Olivo R, Soares AL, Ida EI, Shimokomaki M (2001) Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional proprieties. *Journal of Food Biochemistry* 25:271-283. doi: 0.1111/j.1745-4514.2001.tb00740.x
- Ruiz-Carrascal J, Ventanas J, Cava, R, Andrés AI, García C (2000) Texture and appearance of dry cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International* 33:91-95. Doi: 10.1016/S0963-9969(99)00153-2
- Soares AL, Ida EI, Miyamoto S, Hernandez-Blazquez FJ et al (2003) Phospholipase A2 Activity in Poultry PSE, Pale, Soft, Exudative. *Journal Food Biochemistry* 27:309-320. doi: 10.1111/j.1745-4514.2003.tb00285.x
- Soares AL, Marchi DF, Matsushita M, Guarnieri PD et al (2009) Lipid Oxidation and Fatty Acid Profile Related to Broiler Breast Meat Color Abnormalities. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 52:1513-1518. doi: 10.1590/S1516-89132009000600023
- Van Laack RLJ, Kauffman RG, Sybesma W, Smulders FJM et al (1994). Is Colour Brightness (*L-Value*) a Reliable Indicator of Water-Holding Capacity in Porcine Muscle. *Meat Science*, 38:193-201. doi: 10.1016/0309-1740(94)90109-0

5.3 ARTIGO CIENTÍFICO 3

Development and evaluation of hamburger prepared with liquid smoke using PSE (pale, soft, exudative) and PFN (pale, firm and non-exudative) broiler breast meat

JULIANA NUNES DE ALMEIDA, FERNANDA JÉSSICA MENDONÇA·ELOÁ
CLARISMUNDO FERNANDES, THAÍS DORNELLAS, SANDRA HELENA
PRUDENCIO, ADRIANA LOURENÇO SOARES

Development and evaluation of hamburger prepared with liquid smoke using PSE (pale, soft, exudative) and PFN (pale, firm and non-exudative) broiler breast meat

*JULIANA NUNES DE ALMEIDA¹, FERNANDA JÉSSICA MENDONÇA¹, ELOÁ CLARISMUNDO FERNANDES¹, THAÍS DORNELLAS¹, SANDRA HELENA PRUDENCIO, ADRIANA LOURENÇO SOARES¹

¹Department of Food Science and Technology, State University of Londrina, Rod. Celso Garcia Cid (PR 445), Km 380, Cx Postal 10.011, 86057-970, Paraná, Brazil

*juh.nunes@gmail.com, fernanda.mendonca@live.com, elooafernandes@gmail.com, td.dornellas@gmail.com, sandrah@uel.br, adri.soares@uel.br

Abstract The objective this work was to evaluate the use of PFN and PSE breast meat in development of hamburgers and its physicochemical and sensorial characteristics. Breast meat from a commercial plant were classified into two categories: PSE-pale, soft, exudative (pH \leq 5.80 and $L^*_{24h} \geq 53.0$) and PFN-pale, firm and non-exudative (pH $>$ 5.80 and $L^* \geq 53.0$). The chicken hamburgers were evaluated by chemical composition, color, water activity, lipid oxidation, shear force and sensorial analysis. The Student's t test was used to compare the results. The hamburgers elaborated with PSE meat presented higher values of protein than hamburgers of PFN meat. The content of moisture, fat and ash did not differ between two samples. The hamburgers elaborated with PFN breast meat presented paler, harder and with low yield cooking values but these characteristics did not interfere in the purchase intention test by judges

Keywords Lipid oxidation · Shear force · Sensorial analysis ·

Introduction

Hamburger is a popular product due to the practicality of its consumption, with a long shelf life when stored correctly (on average 180 days frozen), it presents good nutritional characteristics, however the industry usually does not use noble meats for its preparation and the preference of the consumer (Arisseto 2005).

According to the Brazilian legislation hamburger is the industrialized meat product obtained from the meat of animals, added or not of adipose tissue and ingredients, molded and submitted to a suitable technological process (Brazil 2002). The chicken meat hamburger still have low consumption. The use of liquid smoke could be attractive to increase the consumption of chicken hamburgers.

The broiler breast meat presented differences in meat quality. Basically, there are three meat quality categories: PSE meat (*pale, soft, exudative*), PFN meat (*pale, firm, non-exudative*) and Normal meat. PSE meat is characterized by poor water holding capacity due to protein denaturation, which decreases yield of product (Kissel et al, 2009; Komiyama et al. (2009). Instead, PFN meat is characterized by light appearance but a good WHC (Kauffman et al., 1998, Van Laack et al, 1994; Dokmanovic et al., 2014). To our knowledge, there isn't information in the scientific literature regarding the use of PFN breast meat in development of products meats and its characteristics.

The objective of this work was to evaluate the use of PFN and PSE breast meat in development of hamburgers and its physicochemical and sensorial characteristics.

Materials and Methods

Meat Samples

Fillet meat (*Pectoralis major* m.) samples were obtained from 42-day old broilers from a commercial plant located in the South of Brazil. The animals were slaughtered according to the standard industrial practice, essentially consisted of electrical stunning, bleeding, defeathering, evisceration, water-cooling the carcass, deboning and refrigeration. The length of time from slaughtering to samples collection was about 2 hours.

Sample Classification

The samples (n=79) were classified into PSE and PFN as described Kaminishikawahara et al. (2016), PSE meat ($\text{pH} \leq 5.80$ and $L^*_{24\text{h}} \geq 53.0$) and PFN meat ($\text{pH} > 5.80$ and $L^* \geq 53.0$). A Minolta CR400 colorimeter was used to evaluate the color (L^* , a^* , b^*) of the posterior surface of intact skinless breast muscle at 24 h post-mortem. The L^* , a^* and b^* values were measured at three different points on the same sample: the proximal extremity of muscle, the distal extremity of the muscle and the medial side half-way between the proximal and distal extremities (Soares et al 2003). The pH levels were measured at 24 hours post-mortem by inserting electrodes into the meat samples using a portable pH meter (Testo 205), as reported in Olivo et al (2001).

Elaboration of hamburger

Breast fillet meat were divided into two treatments groups: PSE and PFN. The formulation was: 82% of breast meat, 6.25% of animal fat, 4% of isolated soy protein, 3.7% of water, 1.7% of salt, 0.8% sodium glutamate, 0.6% of liquid smoke, 0.25% of sodium erythorbate, 0.25% of garlic, 0.20% of onion, 0.15% of white pepper and 0.10% of parsley. The chicken meat fillets were grounded and the ingredients were added and mixed. The hamburgers were molded in two sizes, 100 g for use in the sensory analysis and 60 g for the other analyzes, all of which presented the same thickness and stored at -18°C for 60 days.

Proximate composition analysis and Aw

The proximate composition analysis was evaluated using the AOAC Analytical Methods (AOAC 2006a, b, c, d) as follows: Moisture (Method 950.46), Protein (Method 992.15), Total fat (Method 960.39), and Ash Determination (Method 942.05). All analyses were carried out in triplicate. The Aw was measured using the Aqualab Dew Point 4 tev.

Color and pH measurement

Minolta CR400 colorimeter (D65 illuminant) was used to evaluate color of raw hamburgers in 10 different points. The results were expressed in L^* , a^* and b^* of CIELAB system. The pH was measured by inserting 5-points electrodes into the hamburger samples using a portable pH meter (Testo 205).

Lipid oxidation

Lipid oxidation was assessed using TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) as described by Tarladgis, Pearson e Dugan (1964). The TBARS values were expressed as

milligrams of TBARS per kilogram of meat. Briefly, 20 g of samples (n=9) was blended with 98 mL of distilled water and 2.5 mL of HCl 4 mol.L⁻¹, 2,0 mL of sulfanilamide 0,5% in HCL 20% and defoamer. This solution was distilled for 10 min. and were collected 50 mL, 5 mL of distilled was reacted with 5 mL of 0.02 mol.L⁻¹ of TBA, heated for 35 minutes at 100 °C (water bath), cooled, and the concentration was spectrophotometrically measured at 535 nm. Tetraethoxypropane was used as the standard.

Water-holding capacity

Approximately six samples per treatment, with 10 g each, weighed into polycarbonate tubes and then heated at 90 °C for 10 min in a water bath. After heating, the samples were carefully removed from the tubes with the aid of tweezers. When the samples had cooled at room temperature, they were wrapped in cotton cheese cloth and placed into 50 mL polycarbonate centrifuge tubes with enough absorbent cotton wool on the bottom. The samples were then centrifuged for 10 min at 7000 x g at 4 °C, then the samples were reweighed. The WHC value was then calculated for six replicates per treatment using the following equation:

$$\%WHC = (1 - (B - A) / U) \times 100$$

where *WHC* is the water-holding capacity; *B* is the weight of sample before heating; *A* is the weight of sample after heating and centrifuging and *U* is the total water content in sample (Troy, Desmond and Buckey 1999).

Cooking yield (CY)

Hamburger were cooked in an electric grill for 6 min until internal temperature reached 75 °C and percentage cooking yield was calculated as the differential weight between individual uncooked and cooked hamburgers for five replicates per treatment (Berry 1992).

Dimensional shrinkage (DS)

Percentage shrinkage was determined as the difference in average diameter of raw and cooked hamburgers for five replicates per treatment with the aid of a digital paquimeter (Berry 1992).

Shear Force

The shear force (SF) was measured in the grilled hamburger samples (n=15). Samples were cutted in size of 1x1x2 cm³ and analyzed on a texturometer TATX-2i at the speed of 2 mm/second during pre-test and 10 mm/s during the test and post-test. The results were expressed in Newton (N).

Sensory analysis

Sensory evaluation was conducted in the hamburgers chicken meat: PFN and PSE on the 24 h of storage at 4 °C. The hamburgers (100 g) were grilled for app 8 min until temperature reached to 75 °C. The hamburgers were cutted in eight equal pieces. The paired comparison test was used with sensory panel consisted in 105 untrained assessors who were habitual consumers of hamburgers. The hamburgers were coded with 3-digit numbers and served at 60 °C in plastic plate, all samples at same time, in random order. The assessors were instructed to

indicate the sample of greater intensity of sensory attribute. The attribute evaluated were color in inside hamburger, hardness and juiciness, the data were carried out using the paired binominal test. The purchase intention test also was evaluated using a five-point scale, where 1 corresponds to certainly would not buy and 5 certainly would buy. Frequency of consumption of chicken burger was also evaluated. The project was approved by the Ethical Conduct in Research Involving Human Beings Committee from the Londrina State University, through CAAE n° 61383716.3.0000.5231 (Annex 2). The safety of the products was ensured through microbiological analyzes according to RDC 12 de 2001 (Brazil 2001).

Statistical Analysis

Statistical analysis were carried out using the *STATISTICA* 10.0 program. The *Student's t test* at a 5 % probability was used to compare the data between groups and the Tukey test at a 5 % probability was used to compare the data during storage period.

Results and Discussion

PSE and PFN meat samples

Fillets classified (n=79) according to pH and color with 24 h post-mortem are shown in Table 1. The pH was 3.56% higher in the PFN fillets and the L* 1.76% lower in relation to the PSE fillets. The values of a* and b* did not differ between PSE and PFN samples. The PSE meat is characterized by paleness due to fast glycolysis post-mortem that caused low water holding capacity (Barbut 2008, Olivo et al 2001, Lesiow and Xiong 2013). While the PFN samples was characterized by light appearance but a good WHC (Kauffman et al 1998, Van Laack et al 1994, Dokmanovic et al 2014).

Table 1 Means values of L*, a*, b* and pH in PSE and PFN breast meat fillets

	PSE (n=55)	PFN (n=24)
pH _{24h}	5.68 ± 0.07 ^b	5.89 ± 0.07 ^a
L*	57.27 ± 2.14 ^a	56.26 ± 1.65 ^b
a*	1.97 ± 0.74 ^a	1.76 ± 0.79 ^a
b*	6.39 ± 1.70 ^a	6.30 ± 1.64 ^a

^{a-b} Means followed by different letters in the same line differ significantly by *Student's t test* at level of 5.0% of probability

The hamburgers elaborated with PSE meat presented higher values of protein than hamburgers of PFN meat (Table 2). The content of moisture, fat and ash did not differ between two samples, although it was expected that the moisture values was higher for PSE hamburgers due to low WHC of PSE meat (Barbut 2008, Olivo et al 2001, Lesiow and Xiong 2013). Probably the use of 4 % of isolated soy protein was enough to enhance the functional properties of PSE meat. Kissel et al (2009) observed that additives as isolated soy protein and cassava starch increases the functional properties of PSE meat in the production of mortadella chicken.

Table 2 Proximate composition of hamburgers chicken of PSE and PFN meat samples.

	PSE	PFN
Moisture (%)	66.59 ± 0.57 ^a	66.78 ± 0.53 ^a
Protein (%)	21.68 ± 0.38 ^a	20.50 ± 0.32 ^b
Fat (%)	6.92 ± 0.48 ^a	6.55 ± 0.99 ^a
Ash (%)	2.66 ± 0.21 ^a	2.79 ± 0.08 ^a

^{a-b} Means followed by different letters in the same line differ significantly by *Student's t* test at level of 5.0% of probability

The hamburgers were stored at -18 °C and evaluated during storage period for 2, 15, 30, 45 and 60 days and results obtained were presented in Table 3 and Table 4.

Table 3 Values of color, pH and lipid oxidation of PSE and PFN hamburger chicken stored at 4°C for 2, 15, 30, 45 and 60 days.

		PFN	PSE
L*	Time 2	60.34 ± 1.78 ^{aA}	56.37 ± 2.35 ^{bA}
	Time 15	55.40 ± 2.33 ^{aB}	53.74 ± 2.99 ^{aAB}
	Time 30	56.60 ± 2.61 ^{aB}	54.13 ± 1.38 ^{bAB}
	Time 45	55.17 ± 3.01 ^{aB}	53.71 ± 0.89 ^{aB}
	Time 60	57.26 ± 2.95 ^{aAB}	55.05 ± 2.12 ^{aAB}
a*	Time 2	1.56 ± 0.39 ^{aA}	1.25 ± 0.82 ^{aA}
	Time 15	2.14 ± 0.53 ^{aA}	1.88 ± 0.81 ^{aA}
	Time 30	2.02 ± 1.15 ^{aA}	1.14 ± 0.32 ^{bA}
	Time 45	1.33 ± 1.00 ^{aA}	1.21 ± 0.95 ^{aA}
	Time 60	1.49 ± 0.54 ^{aA}	1.30 ± 0.51 ^{aA}
b*	Time 2	15.53 ± 1.37 ^{aA}	13.89 ± 1.42 ^{bA}
	Time 15	13.60 ± 1.15 ^{aAB}	13.54 ± 1.49 ^{aA}
	Time 30	14.11 ± 0.91 ^{aAB}	13.05 ± 0.92 ^{bA}
	Time 45	12.33 ± 2.32 ^{aB}	13.03 ± 0.83 ^{aA}
	Time 60	13.93 ± 1.69 ^{aAB}	14.02 ± 1.39 ^{aA}
pH	Time 2	5.90 ± 0.02 ^{aB}	5.77 ± 0.01 ^{bC}
	Time 15	5.83 ± 0.02 ^{aC}	5.73 ± 0.01 ^{bD}
	Time 30	5.93 ± 0.02 ^{aAB}	5.88 ± 0.01 ^{bA}
	Time 45	5.94 ± 0.02 ^{aA}	5.86 ± 0.01 ^{bAB}
	Time 60	5.94 ± 0.02 ^{aAB}	5.83 ± 0.02 ^{bB}
Lipid oxidation	Time 2	0.08 ± 0.01 ^{aB}	0.09 ± 0.01 ^{aB}
	Time 15	0.13 ± 0.01 ^{aA}	0.11 ± 0.01 ^{bA}
	Time 30	0.08 ± 0.01 ^{aB}	0.09 ± 0.01 ^{aB}
	Time 45	0.08 ± 0.01 ^{aB}	0.07 ± 0.01 ^{aB}
	Time 60	0.14 ± 0.01 ^{aA}	0.13 ± 0.01 ^{aAB}

^{a-b} Means followed by different letters in the same line differ significantly by *Student's t* test at level of 5.0% of probability. ^{A-B-C} Means followed by different letters in the same column differ significantly by Tukey's test at the level of 5.0% of probability.

The L* value was higher for PFN hamburgers at 2 and 30 days of storage, the processing possibly interfered in the luminosity of the samples, since in the whole fillets the PSE samples presented higher paleness. The a* values was higher for PFN samples at 30 days of storage while b* values was higher for PFN samples at 2 and 30 days. The pH values were different between PFN and PSE samples during storage. The pH has great influence on the meat products, influencing the state of conservation and organoleptic characteristics. The lipid oxidation differed only at 15 days of storage and was higher for PFN samples. The PSE meat

presented more oxidized when compared to PFN and Normal meat (Soares et al 2009; Kaminishikawahara et al 2016, Almeida et al 2017) however in this study did not observed a higher lipid oxidation in hamburgers of PSE meat probably due to addition of sodium erythorbate. The values of lipid oxidation remained low during time of storage.

Table 4 shows the results of water activity, shear force, water-holding capacity, cooking yield and dimensional shrinkage.

Table 4 Values of water activity (Aw) shear force (SF), water-holding capacity (WHC), cooking yield (CY) and dimensional shrinkage (DS) of PSE and PFN hamburger chicken stored at 4°C for 2, 15, 30, 45 and 60 days.

		PFN	PSE
Aw	Time 2	0.967 ± 0.001 ^{aB}	0.965 ± 0.002 ^{aB}
	Time 15	0.966 ± 0.001 ^{aB}	0.967 ± 0.005 ^{aB}
	Time 30	0.970 ± 0.002 ^{aB}	0.970 ± 0.003 ^{aB}
	Time 45	0.978 ± 0.004 ^{aA}	0.979 ± 0.001 ^{aA}
	Time 60	0.970 ± 0.001 ^{bB}	0.979 ± 0.004 ^{aA}
SF	Time 2	23.15 ± 4.48 ^{aA}	20.82 ± 2.08 ^{aA}
	Time 15	14.91 ± 1.94 ^{aC}	13.54 ± 1.93 ^{bB}
	Time 30	15.01 ± 3.05 ^{aC}	13.89 ± 2.18 ^{aB}
	Time 45	16.68 ± 3.84 ^{aC}	14.53 ± 2.29 ^{bB}
	Time 60	19.38 ± 3.10 ^{aB}	19.85 ± 2.98 ^{aA}
WHC	Time 2	94.64 ± 0.26 ^{bB}	95.28 ± 0.25 ^{aB}
	Time 15	95.42 ± 0.26 ^{aA}	95.26 ± 0.22 ^{aB}
	Time 30	95.10 ± 0.16 ^{bAC}	95.75 ± 0.20 ^{aA}
	Time 45	94.87 ± 0.27 ^{bBC}	95.32 ± 0.11 ^{aB}
	Time 60	95.31 ± 0.25 ^{aA}	95.47 ± 0.25 ^{aA}
% CY	Time 2	71.42 ± 1.61 ^{aB}	72.40 ± 1.08 ^{aC}
	Time 15	75.28 ± 2.29 ^{bA}	81.08 ± 0.80 ^{aA}
	Time 30	95.10 ± 0.16 ^{bAC}	95.75 ± 0.20 ^{aA}
	Time 45	70.41 ± 1.15 ^{bB}	76.03 ± 0.61 ^{aB}
	Time 60	72.47 ± 1.69 ^{aAB}	73.60 ± 1.10 ^{aC}
% DS	Time 2	15.83 ± 1.26 ^{aA}	17.60 ± 0.39 ^{aA}
	Time 15	17.27 ± 2.23 ^{aA}	14.88 ± 2.21 ^{aA}
	Time 30	18.33 ± 1.17 ^{aA}	17.54 ± 1.30 ^{aA}
	Time 45	17.33 ± 2.69 ^{aA}	15.98 ± 1.05 ^{aA}
	Time 60	17.38 ± 0.99 ^{aA}	16.19 ± 2.05 ^{aA}

^{a-b} Means followed by different letters in the same line differ significantly by *Student's t* test at level of 5.0% of probability. ^{A-B-C} Means followed by different letters in the same column differ significantly by Tukey's test at the level of 5.0% of probability Aw = water activity; SF = Shear force; WHC = water-holding capacity; % CY = Cook yield; % DS = dimensional shrinkage.

The Aw was different only in time 60, indicating that there was no interference from storage. The shear force was higher for PFN samples at 15 and 45 days of storage probably due to lower WHC observed in these samples. Conversely, there was expected that PSE samples had lower WHC due to protein denaturation in consequence of rapid glycolysis (Barbut 2008, Olivo et al 2001, Lesiow and Xiong, 2013) probably the addition of soy protein improves the functional properties and which also influence the texture of the final product. As consequence of lower WHC the PFN samples presented lower cooking yield at 2, 30 and

45 days of storage. The dimensional shrinkage did not differ between PFN and PSE samples. Komiya et al. (2009) also did not observe difference for dimensional shrinkage between pale and normal chicken hamburgers.

By evaluating each group individually during the storage, only DS did not differ in any of the groups, showing that the oscillations in Aw and CRA values during storage did not interfere in the values DS. A similar behavior could be observed between two treatments (PFN and PSE) during the 60 days of storage, but PFN burgers showed the characteristics more affected than PSE hamburgers.

Sensory analysis

For the analysis of the answers the Table E2164-08 (ASTM 2008) was used, which indicates the minimum number of responses to establish the significant difference ($p \leq 0.05$) between two samples, was used as the reference for analysis of the results. As the number of assessors was higher than indicated in the table, the following equation was used to establish the minimum number of responses:

$$x = \left(\frac{n}{2}\right) + z \cdot \sqrt{\left(\frac{n}{4}\right)} \quad \text{where: } n = \text{assessors and } z = 1,96 (p \leq 0,05)$$

Therefore, the value of $x = 62$ was obtained, which corresponds to the minimum number of responses required to establish differences between samples.

The sensorial test was conducted with 105 untrained assessors aged between 18-35 years of which 65.72 % of the female gender. In relation to color attribute, 66 assessors indicated the PFN samples as paler than PSE samples. According to Meilgaard et al (1992), at a significance level of 5 % with this number of assessors, the response should contain a minimum of 20 panelists opting for one of the samples, in order to prove a significant difference between them. Therefore, it was corroborated that the PFN samples is paler than PSE samples (Table 1 and Table 3). The others sensorial attributes hardness and juiciness did not differ between samples.

Regarding the frequency of consumption of chicken hamburger, 60.95 % indicated that they rarely consume the product, despite this result, 52.38 % said they would certainly buy the chicken burger elaborated with liquid smoke.

Conclusion

The hamburgers elaborated with PFN breast meat presented paler, harder and with low yield cooking values but these characteristics did not interfere in the purchase intention test by judges.

Acknowledgment

This work was funded by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)/Fundação Araucária.

References

- Almeida JN, Grespan M, Soares AS (submitted) (2017) Antioxidant enzymes and biochemical parameters in PFN (pale, firm, non-exudative) and PSE (pale, soft, exudative) broiler breast meat.

- AOAC Authors (2006) Official methods of analysis proximate analysis and calculations total fat meat—item 25. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, 17th edn. Reference data: method 960.39 (39.1.05); NFNAP; LIPD; FA
- AOAC Authors (2006) Official methods of analysis proximate analysis and calculations ash determination (Ash)—item 51. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, 17th edn. Reference data: method 942.05; MIN; ASH
- AOAC Authors (2006) Official methods of analysis proximate analysis and calculations crude protein meat and meat products including pet foods—item 80. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, 17th edn. Reference data: method 992.15 (39.1.16); NFNAP; NITR; NT
- AOAC Authors (2006) Official methods of analysis proximate analysis and calculations moisture (M) meat—item 108. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, 17th edn. Reference data: method 950.46 (39.1.02); NFNAP; WATER
- Arriseto AP, Pollonio MAR (2005) Estudo da aceitação global e das características químicas do hambúrguer tipo calabresa, com reduzidos teores de nitrito e diferentes percentagens de gordura, durante armazenamento congelado. *Higiene Alimentar* 19:53-58.
- ASTM E2164-08 (2008) Standard Test Method for Directional Difference Test, ASTM International, West Conshohocken, PA. doi: 10.1520/E2164-08
- Barbut S, Sosnicki AA, Lonergan SM, Knapp T et al. (2008) Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Science*, 79:46-63. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.07.031
- Berry BW (1992) Low fat level effects on sensory, shear, cooking, and chemical properties os ground beef patties. *Journal Food Science* 57:537-540. doi: 10.1111/j.1365-2621.1992.tb08037.x
- Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2002) Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer. *Diário Oficial da União, Brasília*, 31 de julho de 2002
- Dokmanovic M, Baltic ZM, Markovic R, et al (2014) Relationships among pre-slaughter stress, rigor mortis, blood lactate, and meat and carcass quality in pigs. *Acta Veterinaria-Beograd* 64:124-137. doi: 10.2478/acve-2014-0013
- Kaminishikawahara CM, Mendonça FJ, Grespan M, Bracarense AP et al (2016) Pale, Firm and Non-exudative (PFN): An Evidence Of An Emerging Major Broiler Breast Meat Color Group. 18th International Conf. on Agricultural Sci. and Food Engineering, Tokyo, Japan
- Kauffman RG, van Laack RLJM, Russell RL et al (1998) Can pale, soft, exudative pork be prevented by postmortem sodium bicarbonate injection? *Journal of Animal Science* 76:3010-3015. doi: 10.2527/1998.76123010x
- Kissel C, Soares AL, Rossa A, Shimokomaki M (2009) Functional Properties of PSE (*Pale, Soft, Exudative*) Broiler Meat in the Production of Mortadella. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52:213-217. doi: 10.1590/S1516-89132009000700027
- Komiyama CM, Mendes AA, Takahashi SE et al (2009) Características qualitativas de produtos elaborados com carne de frango pálida e normal. *Ciência Tecnologia de Alimentos* 29:38-45. doi: 10.1590/S0101-20612009000100007
- Lesiów T, Xiong YL (2013) A simple, reliable and reproductive method to obtain experimental pale, soft and exudative (PSE) pork. *Meat Science* 93 (2013) 489–494. doi: 10.1016/j.meatsci.2012.11.022
- Meilgaard M, Civile GV, Carr BT (1992) *Sensory evaluation techniques*. 2. Edição. Editora CRC Press, Nova York. 354p.

- Olivo R, Soares AL, Ida EI, Shimokomaki M (2001) Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional proprieties. *Journal of Food Biochemistry* 25:271-283. doi: 0.1111/j.1745-4514.2001.tb00740.x
- Soares AL, Ida EI, Miyamoto S, Hernandez-Blazquez FJ et al (2003) Phospholipase A2 Activity in Poultry PSE, Pale, Soft, Exudative. *Journal Food Biochemistry* 27:309-320. doi: 10.1111/j.1745-4514.2003.tb00285.x
- Soares AL, Marchi DF, Matsushita M, Guarnieri PD et al (2009) Lipid Oxidation and Fatty Acid Profile Related to Broiler Breast Meat Color Abnormalities. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52:1513-1518. Doi: 10.1590/S1516-89132009000600023
- Tarladgis BG, Pearson AM, Dugan R (1964) Chemistry of the 2-thiobarbituric test for determination of oxidative rancidity in foods. II Formation of the TBA-malonaldehyde complex without acid-heat treatment *Journal of Food Science and Agriculture* 15:602-607. doi: 10.1002/jsfa.2740150904
- Troy DJ, Desmond EM, Buckey DJ (1999) Eating quality of low-fat beef burgers containing fat-replacing functional blends. *Journal Science Food Agricultural* 79:507-516. doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(19990315)79:4
- Van Laack RLJ, Kauffman RG, Sybesma W, Smulders FJM et al (1994) Is Colour Brightness (*L*-Value) a Reliable Indicator of Water-Holding Capacity in Porcine Muscle. *Meat Science*, 38:193-201. doi: 10.1016/0309-1740(94)90109-0

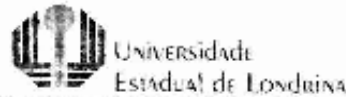
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Filés PFN, podem ser considerados como uma nova categoria de carne de frango, que apresenta características diferentes das carnes PSE, principalmente quando utilizadas na elaboração de produtos cárneos. Embora carnes PFN e PSE apresentem anormalidades de coloração e filés PSE terem as propriedades funcionais comprometidas, é viável utilizá-los na elaboração de produtos cárneos com qualidade similar a carnes Normais, pois o uso de coadjuvantes contribuem para a qualidade final dos produtos, minimizando defeitos de processo, que foram pouco perceptíveis aos consumidores, não interferindo na intenção de compra.

Em relação as características bioquímicas, as carnes PFN apresentaram-se muito semelhante as carnes Normais, principalmente em relação a atividade de enzimas antioxidantes e oxidação lipídica, havendo a necessidade de mais estudos para avaliar as diferenças químicas e bioquímicas dessas categorias de carnes de frango.

7 ANEXOS

ANEXO 1



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 42/2016

Londrina, 08 de Março de 2016.

Prezada Pesquisadora,


Certificamos que o projeto intitulado "**Atividades de enzimas antioxidantes em carnes PSE (Pale, Soft, Exudative) de frango**", protocolo CEUA nº 3157.2016.14, sob a responsabilidade de **Adriana Lourenço Soares Russo**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UEL), em reunião realizada em **01/03/2016**.

O projeto tem como objetivo investigar a atividade de antioxidantes enzimáticos em carnes PSE e normal de frangos para realizar classificação das carnes de aves. Será realizado um experimento com coleta de filés de frango após abate realizado em frigorífico com SIF que segue as práticas de bem-estar animal e a legislação brasileira. Os animais não serão manipulados pelos estudantes nem pelos pesquisadores, e nenhuma etapa de abate será alterada. Será adotado um delineamento inteiramente ao acaso, totalizando coleta de 1.000 filés de peito de frango. GI = 1.

Vigência do Projeto	04/04/2016 a 14/07/2017
Especie/Inagem	Ave / Cobb
Nº de animais	1.000
Peso/Idade	2,2kg / 42 dias
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Abatedouro Frigorífico COPACOL
Amostras a serem coletadas	Filés de peito de frango

Cumpra-se orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários. Sem mais para o momento, subscrevo, cordalmente,

Prof.ª Dra.  Glaura Scantamburlo Alves Fernandes
Coordenadora da CEUA/UEL

Illa Sra

Prof.ª Dra. Adriana Lourenço Soares Russo

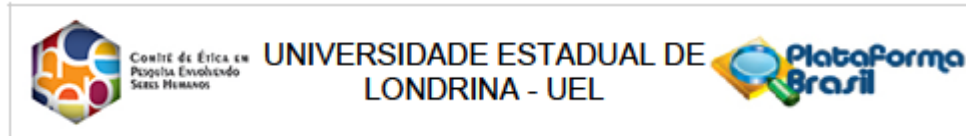
Coordenadora do Projeto

Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos / Centro de Ciências Agrárias

Com cópia para André Junior de Conceição (Chefe da DP-ICIPROPPG) - Chefe do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos e Daltro(s) do Centro de Ciências Agrárias

Universidade Estadual de Londrina - Caixa Postal 609, CEP 86051-980 - Fone: (51) 3333-1000 - Fax: (51) 3333-1001 - CEP: 86051-980 - Londrina, Paraná, Brasil
LONDRIINA - PARANÁ - BRASIL

ANEXO 2



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO SENSORIAL DE PEITO DE FRANGO DEFUMADO E HAMBÚRGUER DE FRANGO ELABORADOS COM CARNES PSE (PALE, SOFT, EXUDATIVE) E PFN (PALE, FIRM E NORMAL)

Pesquisador: JULIANA NUNES DE ALMEIDA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 61383716.3.0000.5231

Instituição Proponente: Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.816.097

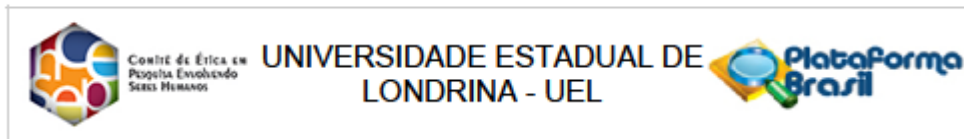
Apresentação do Projeto:

Entre as produções animais, a avicultura é uma das atividades que mais desenvolveu nas últimas décadas, com grandes progressos na genética, nutrição, manejo e sanidade. Fatores como a presença de carnes PSE e PFN levam a alterações nas características funcionais da carne como textura, sabor, cor, capacidade de retenção de água e perda do valor nutritivo e isso pode interferir na elaboração de produtos cárneos. Sendo assim, essa pesquisa visa investigar a interferência dessas anomalias nas características funcionais de Hambúrguer de Frango e Peito de Frango Defumado e se as mesmas são perceptíveis ao paladar do consumidor.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar sensorialmente os produtos Hambúrguer de Frango e Peito de Frango Defumado. Em um primeiro momento será avaliada três formulações para cada produto, de acordo com teste de Escala Hedônica de 9 pontos, onde o provador avaliará as seguintes características: cor, aroma, sabor, textura e impressão global. Após escolha da melhor formulação, novos produtos de Hambúrguer e Peito Defumado serão elaborados utilizando como matéria-prima carnes PSE (Pale, Soft, Exudative) e PFN (Pale, Firm, Normal). Uma nova análise sensorial será realizada, agora

Endereço: LABESC - Sala 14	CEP: 86.057-970
Bairro: Campus Universitário	
UF: PR	Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455	E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 1.816.097

utilizando o Teste de Ordenação, onde o provador deverá ordenar das características de cor, sensação fibrosa e suculência, do menos intenso para o mais intenso, de cada amostra que receber. Os dados gerados pelo provador serão sigilosos. Os resultados obtidos serão analisados estatisticamente.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Serão convidados a participarem do teste os alunos, professores e funcionários do CCA, acima de 18 anos e que tenham o hábito de consumir produtos cárneos de frango. Critério de Exclusão: Alergia a algum ingrediente da formulação.

Riscos: Os provadores, serão informados previamente a análise sensorial sobre os ingredientes utilizados na formulação e caso apresente algum tipo de alergia, ele não fará parte da equipe sensorial. O provador poderá interromper o teste a qualquer momento, o consumo dos produtos cárneos durante o teste é de no máximo 30g, não trazendo nenhum risco ao participante, mas qualquer problema decorrente da pesquisa, a pesquisadora se compromete a ampara-lo.

Benefícios: Não haverá benefícios direto aos participantes da pesquisa, mas como benefício indireto espera-se desenvolver novos produtos cárneos que sejam aceitos sensorialmente por potenciais consumidores e identificar se as diferenças dos produtos cárneos elaborados com carnes PSE e PFN são perceptíveis ao consumidor.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa realizada em nível de doutorado avaliará grupos de 80 pessoas para cada teste, totalizando 320 testes/pessoas visando melhorar a qualidade e aparência dos produtos analisados. Os riscos apresentados na pesquisa são mínimos e a pesquisadora se compromete a amparar eventual pessoa que tenha necessidade. Os TCLEs estão todos corretos bem como o cronograma apresentado está adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

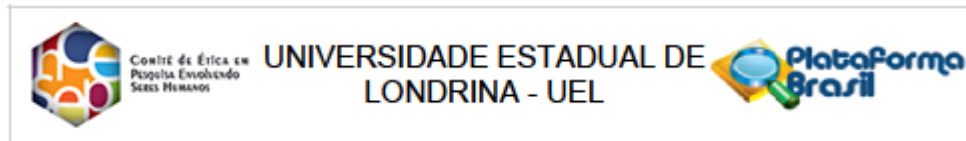
Os termos de apresentação obrigatória foram devidamente apresentados e estão corretos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: LABESC - Sala 14
 Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
 UF: PR Município: LONDRINA
 Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 1.816.097

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_815643.pdf	26/10/2016 09:53:24		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_Juliana.pdf	26/10/2016 08:41:24	JULIANA NUNES DE ALMEIDA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Comite_Etica_Juliana_Almeida.doc	26/10/2016 08:40:38	JULIANA NUNES DE ALMEIDA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ORDENACAO_PEITO_DEF_ANEXO_6.doc	25/10/2016 17:36:46	JULIANA NUNES DE ALMEIDA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ACEITACAO_PEITO_DEF_ANEXO_5.doc	25/10/2016 17:36:33	JULIANA NUNES DE ALMEIDA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ORDENACAO_HAMBURGUER_ANEXO_4.doc	25/10/2016 17:36:11	JULIANA NUNES DE ALMEIDA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ACEITACAO_HAMBURGUER_ANEXO_3.doc	25/10/2016 17:33:01	JULIANA NUNES DE ALMEIDA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 10 de Novembro de 2016

Assinado por:
Rosana Lopes
(Coordenador)

Endereço: LABESC - Sala 14
 Bairro: Campus Universitário
 UF: PR Município: LONDRINA CEP: 86.057-970
 Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br