



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

DANIELLE CRISTINA BARRETO HONORATO FERREIRA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E HISTOLÓGICA
DE CARNES DE PERU PSE E NORMAL E DE CORTES
COMERCIAIS E OBTENÇÃO DE ISOLADO DE COLÁGENO
DE BARBELAS**

DANIELLE CRISTINA BARRETO HONORATO FERREIRA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E HISTOLÓGICA
DE CARNES DE PERU PSE E NORMAL E DE CORTES
COMERCIAIS E OBTENÇÃO DE ISOLADO DE COLÁGENO
DE BARBELAS**

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: Profa. Dra. Elza Iouko Ida

Coorientadora: Profa. Dra. Adriana Lourenço
Soares Russo

Londrina
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Honorato-Ferreira, Danielle Cristina Barreto .

Caracterização física, química e histológica de carnes de peru PSE e Normal e de cortes comerciais e obtenção de isolado de colágeno de barbelas / Danielle Cristina Barreto Honorato-Ferreira. - Londrina, 2016.
137 f. : il.

Orientador: Elza Iouko Ida.

Coorientador: Adriana Lourenço Soares Russo.

Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2016.
Inclui bibliografia.

1. Carne de peru - Tese. 2. Qualidade - Tese. 3. Cortes comerciais - Tese. 4. Subproduto - Tese. I. Ida, Elza Iouko . II. Soares Russo, Adriana Lourenço . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

DANIELLE CRISTINA BARRETO HONORATO FERREIRA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E HISTOLÓGICA DE
CARNES DE PERU PSE E NORMAL E DE CORTES COMERCIAIS E
OBTENÇÃO DE ISOLADO DE COLÁGENO DE BARBELAS**

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

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Elza Iouko Ida
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Alice Eiko Murakami
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Profa. Dra. Cristiane Canan
Universidade Tecnológica Federal do Paraná –
UTFPR

Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Alexandre Oba
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 29 de novembro de 2016.

**Aos meus pais, Maria e Roberto, minha irmã
Andressa e meu esposo Gustavo pelo apoio,
incentivo e por não medirem esforços para
concretização de meus objetivos, com todo o
amor e carinho DEDICO.**

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Elza Iouko Ida pela valiosa orientação, confiança, ensinamentos e formação que auxiliaram para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

À Profa. Dra. Adriana L. Soares Russo pela coorientação, apoio, incentivo e por sempre estar disposta a colaborar e auxiliar com os seus conhecimentos.

À CAPES/MEC - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/ Ministério da Educação pela concessão da bolsa de Doutorado.

À Profã. Dra. Ana Paula F. R. L. Bracarense do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UEL pelo apoio no desenvolvimento e realização das análises histológicas.

À BRF Brasil pela colaboração no fornecimento das amostras utilizadas para a realização deste trabalho.

Ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos pelas condições de infraestrutura de laboratórios para a realização deste trabalho.

A todos os Professores do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos pelos ensinamentos.

Aos funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos desta instituição, em especial à Sandra Rezende, Patrícia Sambatti e Elza Youssef pela colaboração e apoio durante a execução da parte experimental.

À Talita Kato pela amizade, parceria e colaboração no planejamento e desenvolvimento dos experimentos.

À Cintia Handa, Cintia Midori Kaminishikawahara, Fernando Sanches de Lima e Marcela Guelfi pela amizade, inúmeros momentos de convivência e auxílios na realização dos experimentos.

Aos estagiários de iniciação científica, em especial à Aryella C. Hoffmann e Alyson Takabayashi pelo apoio no desenvolvimento do trabalho.

A todos os amigos que tive a felicidade de conhecer e conviver durante a minha formação científica, em especial à Angélica Ishikawa, Ariana Justus, Bruna Auriema; Cássia R. Takabayashi, Daniele Rodrigues, Denise F. Prates; Gislaine S. Simões, Maria Rita Alaniz Porto, Marcela L. Kobayashi, Marianne A. Shirai; Marinês Paula Corso, Meg da Silva

Fernandes, Natália C. V. Bom; Rafael H. Carvalho; Raissa Curti Bonfante; Sabrina; P.G. Castilho; Tahis R. Baú; Valéria Brito.

A todos que de alguma forma colaboraram e incentivaram para que mais uma etapa da minha vida fosse alcançada.

“Dizem que a vida é para quem sabe viver, mas ninguém nasce pronto. A vida é para quem é corajoso o suficiente para se arriscar e humilde o bastante para aprender.”

(Clarice Lispector)

HONORATO-FERREIRA, Danielle Cristina Barreto. **Caracterização física, química e histológica de carnes de peru PSE e Normal e de cortes comerciais e obtenção de isolado de colágeno de barbelas.** 2016. 137f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

RESUMO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de carne de peru e devido à evolução positiva na comercialização destas carnes há necessidade de uma avaliação da atual produção com caracterização das carnes de peru PSE e Normal, e dos diferentes cortes comerciais de perus e propor alternativas de aproveitamento de seus subprodutos industriais. O objetivo deste trabalho foi avaliar as características físicas, químicas e histológicas de carnes de peru PSE e Normal, caracterizar os diferentes cortes comerciais quanto à composição química, física e estabilidade oxidativa e estabelecer a melhor condição de extração e obtenção do isolado de colágeno (IC) de barbelas. As amostras foram obtidas em um abatedouro localizado na região sul do Brasil. Para avaliação das carnes PSE e normal, os peitos de peru foram classificados em PSE ($L^* \geq 53$) e Normal ($L^* < 53$) e avaliados quanto ao pH, capacidade de retenção de água (CRA), perda por cozimento (PPC), força de cisalhamento (FC), índice de fragmentação miofibrilar (IFM), desnaturação proteica (DP) e aspectos histológicos. Os cortes comerciais de peru foram caracterizados quanto ao pH, cor (L^* , a^* , b^*), composição química, perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa. Para estabelecer a melhor condição de extração e obtenção de IC foi aplicado o planejamento fatorial completo 22 e avaliado o conteúdo de colágeno, rendimento, grau de purificação e perfil de eletroforese. O pH nos peitos de peru PSE foi menor do que no Normal. A CRA e FC nas carnes PSE apresentaram redução de 2% e 13%, respectivamente; enquanto que a PPC, DP e IFM foram 10%, 21% e 3% maior do que na carne Normal. O diâmetro da fibra muscular PSE foi 19,5% menor em relação à carne Normal, o que caracterizou um maior espaçamento no endomísio que foi promovido pela maior exsudação de água nas carnes PSE. Portanto, as propriedades funcionais da carne de peru PSE são comprometidas. Dos cortes comerciais de perus, o peito apresentou maior conteúdo de proteínas, cinzas, AGP, ômega 3 e ômega 6 e maior estabilidade oxidativa. Enquanto que a coxa, sobrecoxa, asa e pescoço apresentaram características similares de composição química, pH, cor e perfil de ácidos graxos. A pele apresentou menor conteúdo de proteínas, cinzas, AGP, ômega 3 e ômega 6 e menor estabilidade oxidativa. Destaca-se que entre os cortes comerciais de peru, a asa, peito e sobrecoxa apresentaram elevado conteúdo de proteínas e relação AGP/AGS. Para extração e obtenção de IC de barbelas de perus machos a melhor condição do processo foi quando utilizou o pH do ácido acético igual a 2,0 e 0,05% de pepsina, com rendimento de IC de 25% e grau de purificação de 3,9 vezes. O perfil de eletroforese do IC foi similar ao do colágeno tipo I. O processo de obtenção de IC de barbelas de perus machos é simples e viável para ser executada e pode ser recomendada a indústria para reaproveitar este subproduto para elaboração de um aditivo com múltiplas aplicações.

Palavras-chave: Histologia. Qualidade. Cortes comerciais. Carne de aves. Propriedades funcionais. Subprodutos.

HONORATO-FERREIRA, Danielle Cristina Barreto. **Physical, chemical and histological characterization of PSE and Normal turkey meat and of commercial cuts and obtaining collagen isolate of wattles**. 2016. 137p. Thesis (Doctor's degree in Food Science) – University State of Londrina, Londrina, 2016.

ABSTRACT

Brazil is the third turkey meat producer worldwide and due to the positive evolution in the commercialization of this product, it is necessary an evaluation of the current production with characterization of turkey meat PSE or Normal, and of the different commercial cuts and offer alternatives for its industrial by-products applications. The aim of this work was to evaluate the physical, chemical and histological characteristics of PSE and Normal turkey meat, classify different commercial cuts according to chemical composition, physical and oxidative stability, and establish the best condition for extracting and obtaining the isolate collagen (IC) of wattle. The samples were obtained from a slaughterhouse located in the southern region of Brazil. Turkey breasts were classified as PSE ($L^* \geq 53$) and Normal ($L^* < 53$), and evaluated according to pH, water holding capacity (WHC), cooking loss (CL), shear force (SF), myofibrillar fragmentation index (MFI), protein denaturation (DP) and histological aspects. Color (L^* , a^* , b^*), pH, chemical composition, fatty acid profile and oxidative stability were evaluated in commercial turkey meat cuts. In order to establish the best condition for extracting and obtaining IC the factorial design 2² was applied to evaluate the collagen content, yield, degree of purification and electrophoresis profile. PSE turkey breasts pH was lower than Normal. WHC and SF in PSE meat presented reduction of 2% and 13%, respectively; while CL, PD and MFI were 10%, 21% and 3% higher than Normal meat. The diameter of the muscle fiber PSE was 19.5% smaller compared to Normal meat, which characterized a greater spacing in the endomysium promoted by the greater exudation of water in the PSE meat. Therefore, the functional properties of turkey meat PSE are compromised. Protein content, ashes, PGA, omega 3, omega 6 and oxidative stability were higher in turkey breasts. Drumstick, thigh, wing and neck presented similar chemical composition, pH, color and fatty acid profile. Turkey skin presented lower content of proteins, ashes, PGA, omega 3 and omega 6 and lower oxidative stability. Among commercial turkey cuts, wings, breasts and thighs presented higher protein content and PGA/SGA ratio. The best process condition for extracting and obtaining IC from male turkeys was: acetic acid pH 2.0, pepsin 0.05%, 25% IC yield and 3,9 times degree of purification. The IC electrophoresis profile was similar to type I collagen. The IC obtention from male turkeys' wattle is simple and feasible. Thus, the usage of this by-product as a flexible food additive is highly recommended to the industry for multiple applications.

Keywords: Histology. Quality. Commercial cuts. Poultry meat. Functional properties. Byproducts.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Estrutura típica da molécula de colágeno	37
Figura 2 -	Formação de fibrilas de colágeno	38
Figura 3 -	Agregados supramoleculares formados por colágeno	39
ARTIGO CIENTÍFICO 1: Further Physico-Chemical and Histological Characterization of PSE (pale, soft, exudative) Turkey Meat in a Brazilian Commercial Processing Plant		
Figure 1 -	Photomicrograph of cross-sectional muscle pectoralis major of normal turkey breast (A) and PSE turkey breast (B). Arrow = endomysium. HE staining, 20x lens, bar of 100 μm (micrometers).....	87
ARTIGO CIENTÍFICO 2: Caracterização Química, Física e Estabilidade Oxidativa dos Cortes Comerciais de Peru		
Figura 1 -	Oxidação lipídica nos cortes comerciais de peru armazenados	110
ARTIGO CIENTÍFICO 3: Extração e Obtenção de Isolado de Colágeno de Barbelas de Peru		
Figura 1 -	Fluxograma da extração e obtenção de IC de barbelas de peru.....	129
Figura 2 -	Superfície de resposta para Y_1 para extração e obtenção de IC de barbela de peru.....	130
Figura 3 -	Parâmetro estimado de desejabilidade para as variáveis x_1 (pH do ácido acético) e x_2 (% de pepsina) na extração e obtenção de IC de barbela de peru.....	131
Figura 4 -	SDS-Page do IC com maior conteúdo de colágeno de barbelas de peru macho. Coluna 1 – isolado de colágeno (IC); coluna 2- Marcador de peso molecular (Padrão invitrogen); coluna 3- Padrão de colágeno tipo I (Sigma)	132

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Tipos de colágenos, composição molecular e distribuição nos tecidos	40
Tabela 2 -	Planejamento fatorial completo (2^2) com as variáveis independentes da extração para obtenção do isolado de colágeno (IC)	52
ARTIGO CIENTÍFICO 1: Further Physico-Chemical and Histological Characterization of PSE (pale, soft, exudative) Turkey Meat in a Brazilian Commercial Processing Plant		
Table 1 -	Characterization physical, chemical and histological of the PSE and normal turkey breasts (<i>pectoralis major</i>).....	88
Table 2 -	Pearson correlation between the biochemical and physicochemical parameters of turkey breasts (<i>pectoralis major</i>) 24 h post-mortem.....	89
ARTIGO CIENTÍFICO 2: Caracterização Química, Física e Estabilidade Oxidativa dos Cortes Comerciais de Peru		
Tabela 1 -	Características de pH e cor dos cortes comerciais de carnes de peru	111
Tabela 2 -	Composição química dos cortes comerciais de peru	111
Tabela 3 -	Perfil de ácidos graxos dos cortes comerciais de peru.....	112
ARTIGO CIENTÍFICO 3: Extração e Obtenção de Isolado de Colágeno de Barbelas de Peru		
Tabela 1.	Composição química e conteúdo de colágeno de barbelas de perus	133
Tabela 2.	Planejamento fatorial completo (2^2) com variáveis independentes e função resposta (Y_1) nas condições de extração e obtenção de IC de barbelas de peru	133
Tabela 3.	Efeitos estimados para a função resposta (Y_1) a partir dos resultados do planejamento fatorial completo (2^2).....	133
Tabela 4.	ANOVA do modelo linear para a extração e obtenção de IC de barbelas de perus.....	134

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a*	Componente vermelho-verde
ANOVA	Análise de variância
b*	Componente amarelo-azul
CRA	Capacidade de retenção de água
L*	Luminosidade
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
PSE	<i>Pale, Soft, Exudative</i>
SIF	Sistema de Inspeção Federal

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1	Produção Brasileira DE Carne de Peru.....	18
3.2	Processo de Obtenção da Carne de Peru	19
3.3	Transformação do Músculo em Carne	23
3.4	Carnes PSE	24
3.5	Proteases na Carne PSE	28
3.6	Qualidade da Carne	29
3.6.1	COR	29
3.6.2	Capacidade de retenção de água	31
3.6.3	Textura.....	32
3.7	Cortes da Carne de Peru.....	34
3.8	Subprodutos da Indústria Avícola.....	35
3.9	Colágeno	36
3.9.1	Extração de Colágeno	41
4	MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1	Coleta de Amostras.....	43
4.2	Experimento I: Caracterização físico-química e histológica de carnes de peru PSE (<i>Pale, Soft, Exudative</i>) em planta de processamento comercial brasileira (<i>Further physico-chemical and histological characterization of PSE (Pale, Soft, Exudative) turkey meat in a Brazilian commercial processing plant</i>).....	44
4.2.1	Classificação dos peitos de peru PSE e Normal	44
4.2.2	Caracterização de peitos de peru PSE e Normal.....	44
4.2.2.1	Medida de pH.....	45
4.2.2.2	Capacidade de retenção de água (CRA)	45
4.2.2.3	Perda por cozimento (PPC).....	45

4.2.2.4	Textura	45
4.2.2.5	Índice de fragmentação miofibrilar (IFM)	46
4.2.2.6	Desnaturação proteica	46
4.2.2.7	Avaliação histológica por microscopia óptica	47
4.2.3	Análise estatística	47
4.3	Experimento II: Caracterização química, física e estabilidade oxidativa dos cortes comerciais de peru	48
4.3.1	Medida de pH e cor	48
4.3.2	Determinação da composição química	48
4.3.3	Determinação do perfil de ácidos graxos	48
4.3.4	Medida da estabilidade oxidativa	49
4.3.5	Análise estatística	49
4.4	Experimento III: Extração e obtenção de isolado de colágeno (IC) de barbelas de peru	50
4.4.1	Caracterização química e determinação do conteúdo de colágeno	50
4.4.2	Preparo das barbelas de peru para a extração de colágeno	50
4.4.3	Extração e obtenção de isolado de colágeno (IC) de barbelas de peru	50
4.4.4	Validação do modelo	53
4.4.5	Rendimento e grau de purificação do IC	53
4.4.6	Eletroforese	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		54
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
5.1	Artigo Científico 1: Further Physico-Chemical and Histological Characterization of PSE (Pale, Soft, Exudative) Turkey Meat in a Brazilian Commercial Processing Plant.....	68
5.2	Artigo Científico 2: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FÍSICA E ESTABILIDADE OXIDATIVA DOS CORTES COMERCIAIS DE PERU	90
5.3	Artigo Científico 3: EXTRAÇÃO E OBTENÇÃO DE ISOLADO DE COLÁGENO DE BARBELAS DE PERU	113
6	CONCLUSÃO	135
ANEXO	136

1 INTRODUÇÃO

Peru é o nome dado às aves *Galliformes* do gênero *Meleagris* com variantes selvagens e domésticas, originária das Américas. Caracteriza-se morfologicamente como uma ave com a cabeça de pele nua e coloração vermelho-pálido com variações azuladas, coberta de verrugas e carúnculas de diferentes tamanhos (SOCAMPESTRE, 2006). No Brasil, a espécie produzida para comercialização é a *Meleagris gallopavo*.

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de carne de peru, estando à sua frente apenas os Estados Unidos e a União Européia (USDA, 2015). No entanto, a participação da carne de peru tanto na exportação como no consumo interno brasileiro ainda é pequena em relação às carnes de frango, bovinos e suínos. Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2016) este cenário está se modificando e com investimento em divulgações sobre a qualidade da carne de peru acredita-se que o seu consumo se estenda por todo o ano, pois tem sido restrito apenas às épocas festivas.

Em relação ao mercado externo, o Brasil assinou este ano um acordo com a União Européia para ampliar as exportações de carne de peru. O acordo representará uma adição de 631 toneladas à sua cota anual. Desta forma, a criação, produção e comercialização da carne de peru no mercado interno e externo vêm evoluindo positivamente e de forma consistente proporcionando um potencial crescimento para a indústria processadora destas carnes (ABPA, 2016).

Para obtenção de cortes ou carnes desossadas de peru, as aves passam inicialmente pelas etapas de pré-abate, tais como jejum, apanha, carregamento, transporte e tempo de espera no abatedouro (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014). Seguem para a área de pendura, e etapas de insensibilização, sangria, escalda, depenagem, evisceração, resfriamento da carcaça e desossa. Os cortes comerciais podem ser considerados nobres, tais como o peito, coxa e sobrecoxa e de menor valor comercial os cortes do dorso, ponta da asa, pés, cabeças, entre outros (BRASIL, 1998; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014). A comercialização das partes ou cortes de carnes de peru, *in natura*, para consumo humano (UNECE, 2012) pode ser realizada na forma de: (1) peru inteiro, no qual a carcaça inteira é comercializada e pode conter os miúdos; (2) peito, podendo ser comercializado com ou sem osso e com ou sem pele; (3) coxa; (4) sobrecoxa; (5) asa; (6) pescoço, pode ser comercializado sem pele ou então junto com os miúdos; (7) coxa com sobrecoxa (*leg quarter*); (8) sambiquira, são geralmente embalados e comercializados a granel; (9) miúdos; (10) pele e (11) carne mecanicamente

separada. Embora não haja muitos relatos a respeito dos cortes comerciais de peru, *in natura*, sabe-se que o conteúdo de lipídeos totais na asa, *leg quarter* (coxa com sobrecoxa), peito e pele de peru são respectivamente de 0,9 g/100g, 1,1 g/100g, 0,5 g/100g e 12 g/100g, e o conteúdo de colesterol de 46 mg/ 100 g, 35 mg/100g, 27 mg/100g e 81 mg/100 g para os mesmos cortes. Os principais ácidos graxos identificados na asa, *leg quarter*, peito e pele são o ácido linoléico (C18:2n6), ácido oleico (C18:1n9), ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0) e ácido araquidônico (C20:4n-6) (BAGGIO; VICENTE; BRAGAGNOLO, 2002).

A maioria dos resíduos da indústria cárnea são produzidos durante o abate (JAYATHILAKAN et al., 2012) e consistem de partes do animal que não podem ser embaladas e comercializadas, tais como: papo, traqueia, esôfago, conteúdos do trato gastrointestinal, baço, órgãos reprodutores e pulmões. A retirada dos rins, pés, pescoço e cabeça durante o abate é facultativa. Porém, quando os pés e pescoço com ou sem cabeça são retirados na linha de abate para fins comestíveis, estes deverão ser imediatamente pré-resfriados; e a cabeça e os pés obrigatoriamente embalados de forma individual (BRASIL, 1998). Pela legislação brasileira, a retirada da cabeça é facultativa e a sua utilização como fonte de matéria-prima para extração de ingredientes que agreguem valor comercial torna-se mais atrativa do que a sua comercialização *in natura*. Assim, as barbelas de peru que são descartadas e/ou comercializadas junto com as cabeças podem ser consideradas fonte potencial de matéria-prima para extração de colágeno, pois são constituídas por tecido conjuntivo.

A qualidade final da carne de peru é diretamente afetada por uma série de modificações bioquímicas e estruturais que ocorrem simultaneamente, após a morte do animal e são denominadas de processo de conversão do músculo em carne. Estas reações dependem das condições *antemortem*, do processo de abate e das técnicas de armazenamento da carne (KUBOTA; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 1993; RAMOS; GOMIDE, 2007).

As condições *antemortem* inadequadas, como calor e umidade excessivos durante o transporte das aves, da granja ao abatedouro, podem resultar em estresse térmico, que é um dos principais fatores que comprometem a qualidade final da carne e pode promover o desenvolvimento de carne com característica de PSE (*Pale, Soft, Exudative*) (GUARNIERI et al., 2002; ODA et al., 2003; SIMÕES et al., 2009; CARVALHO et al., 2016). As aves expostas ao estresse pré-abate exibem um acelerado declínio no pH, devido à sua rápida glicólise *post-mortem* (FRONING; BABJI; MATHER, 1978; SAMS et al., 2002; SHIMOKOMAKI, 2004). A combinação do baixo pH com a temperatura da carcaça ainda alta, ocasiona a desnaturação das proteínas que compromete as propriedades funcionais da

carne gerando perdas econômicas para a indústria (OLIVO et al., 2001; SHIMOKOMAKI et al., 2006; BARBUT et al., 2008). A desnaturação das proteínas causa a palidez da carne, perda na sua capacidade de retenção de água e alteração da textura (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2001).

Nos últimos anos, a evolução na produção avícola intensificou e, portanto, estudos adicionais são necessários em relação à avaliação da qualidade destas carnes, bem como realizar investigações em relação ao aproveitamento de subprodutos do abate de aves.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as características físicas, químicas e histológicas de carnes de peru PSE e Normal, caracterizar os diferentes cortes comerciais quanto à composição química, física e estabilidade oxidativa e estabelecer a melhor condição de extração e obtenção do isolado de colágeno de barbelas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar as características físicas, químicas e histológicas de carnes de peru PSE e Normal provenientes da planta de processamento comercial brasileira.

Caracterizar os cortes comerciais de peito, coxa, sobrecoxa, asa, pescoço e pele de peru quanto à composição química, física e estabilidade oxidativa.

Estabelecer a melhor condição de extração e obtenção do isolado de colágeno de barbelas de peru aplicando o planejamento fatorial completo 2^2 e caracterizar o perfil de eletroforese.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Produção Brasileira de Carne de Peru

A avicultura é um importante segmento da economia brasileira, pois corresponde a 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) e gera mais de 4,1 milhões de empregos. Um dos sistemas agroindustriais deste segmento é representado pelo peru, o qual tem apresentado uma crescente importância comercial, especialmente em relação às exportações. Além disso, nos últimos anos, o abastecimento de carne de peru no mercado interno também vem aumentando devido à melhora no poder de compra da população, o que faz com que as pessoas busquem produtos que tenham apelo de alimento saudável (ABPA, 2016).

O Brasil tem-se destacado como o terceiro maior produtor mundial de carne de peru (363 mil toneladas), estando à sua frente apenas os Estados Unidos (2,623 milhões toneladas) e a União Européia (1,985 milhões toneladas) (USDA, 2015).

Apesar do Brasil ser o terceiro maior produtor mundial e um grande exportador da carne de peru, a sua participação tanto no comércio exterior quanto no consumo interno ainda é pequena em relação às carnes de frango e bovinos (ABPA, 2016). No entanto, a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) quer modificar este cenário. Internamente, a associação vem investindo em divulgações com relação à qualidade da carne de peru para que o seu consumo não fique restrito apenas às festas de natal e se estenda por todo o ano (ABPA, 2016).

Em relação às exportações brasileiras de carne de peru e comparado ao acumulado de 2015 estas aumentaram 5,9%. Atualmente, a maior importadora de carne de peru brasileira é a União Europeia (57,1 mil toneladas) seguida da África (49,4 mil toneladas), Europa Extra-União Europeia (7,1 mil toneladas), Oriente Médio (3,7 mil toneladas) e Ásia (313 toneladas) (ABPA, 2016).

De acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) (2016), a parcela correspondente a 62,77% das exportações brasileiras de carne de peru são realizadas na forma de cortes cárneos, enquanto que 37,18% são como produtos industrializados e 0,05% são de perus inteiros. Os maiores estados brasileiros exportadores de carne de peru em 2015 foram Goiás (29,15%), Paraná (27,49%), Santa Catarina (16,18%), Minas Gerais (13,75%) e Rio Grande do Sul (13,44%).

Em relação ao mercado externo, o Brasil tem sido procurado por diversos países importadores de carne de peru nos últimos anos, o que tem feito com que as empresas produtoras invistam no setor. Desta forma, a criação e produção de perus no Brasil vêm se tornando altamente especializada, o que faz, cada vez mais, com que os produtores e a indústria busquem novas tecnologias (LIMA, 2016).

Portanto, observa-se que a criação de peru no Brasil tem evoluído positivamente nos últimos anos, fazendo com que ocorra grande potencial de crescimento para a indústria processadora de carne de peru, tanto no mercado interno quanto externo (ABPA, 2016).

3.2 Processo de Obtenção da Carne de Peru

Para obtenção de carcaças, cortes ou carnes desossadas de peru, etapas importantes devem ser seguidas da granja até o preparo no matadouro-frigorífico. Estas etapas necessitam de programação para serem realizadas de maneira eficiente, de forma higiênica e de acordo com os requisitos de bem-estar animal, que favorecem a qualidade e segurança do produto final (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014). De acordo com Carvalho (2016), o período pré-abate das aves, tal como o manejo de captura, carregamento, transporte e tempo de espera no abatedouro, são procedimentos que devem ser bem conduzidos, pois são essenciais para não comprometer o bem-estar das aves, favorecer a sua sobrevivência e a qualidade final da carne.

Para evitar a contaminação das carcaças por conteúdo intestinal durante o processo de abate e reduzir a mortalidade das aves devido ao papo cheio de alimento durante as etapas de apanha e transporte, os animais são submetidos a um jejum alimentar pré-abate, o qual auxilia na redução do conteúdo intestinal e a pressão que este exerce sobre o abdômen, minimizando então o risco de ruptura acidental do órgão. O jejum refere-se ao período de tempo de permanência da ave na granja (geralmente 6 a 8 horas com água *ad libitum*) mais o tempo de transporte e espera na planta do matadouro (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014).

Após as etapas de pré-abate, segundo Gomide, Ramos e Fontes (2014) as aves são conduzidas para a área de pendura por uma esteira transportadora. As aves são removidas manualmente, por meio de uma abertura localizada na parte superior do engradado e penduradas em ganchos ligados a uma linha de abate contínua (nória). A etapa de pendura é naturalmente estressante para o animal e, portanto, é aconselhável minimizar o tempo entre a pendura e a insensibilização. No entanto é necessário também, um tempo mínimo (entre 40 e

60 segundos) para que as aves reduzam as batidas das asas que ocorrem durante a pendura e antes de entrarem no banho de imersão para insensibilização.

Na linha de abate, as aves passam pelas seguintes etapas: insensibilização elétrica, sangria, escalda, depena, evisceração, resfriamento e desossa.

As aves destinadas ao abate devem ser atordoadas (insensibilizadas) por razões humanitárias, de qualidade e segurança, sendo uma exigência legal no Brasil, conforme a Portaria nº 210, de 10 de Novembro de 1998 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 1998). Ainda de acordo com a mesma norma, o abate no Brasil sem insensibilização só é permitido para atender aos preceitos religiosos ou requisitos de países importadores. Além da questão do bem-estar animal, a insensibilização é essencial para facilitar a etapa de sangria. O processo de insensibilização por eletronarcose é o mais comumente utilizado nos matadouros de grande porte e a voltagem dependerá do fabricante (BERAQUET, 1992; LI, SIEBENMORGEN, GRIFFIN, 1993; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014).

De acordo com a Portaria nº 210 de 10 de Novembro de 1998 (BRASIL, 1998), a qual regulamenta a inspeção tecnológica e higiênico sanitária de carne de aves, na etapa de sangria, as aves são sangradas através do corte das artérias carótidas e veias jugulares em área própria e exclusiva, chamada de área de sangria. O tempo mínimo preconizado para a sangria é de três minutos, sendo o sangue colhido em calha própria e destinado à seção de subprodutos. A sangria mal feita em perus, frequentemente resulta numa retenção de sangue nos vasos dos músculos do peito e coxa, prejudicando a sua aparência (veias enegrecidas). Os tempos de sangria muito prolongados (acima de três minutos) também são desaconselhados por comprometer a qualidade da depenagem.

Após a sangria é realizado o processo de escalda, a qual deverá ser executada logo após o término da sangria, não sendo permitida a introdução de aves ainda vivas no sistema (BRASIL, 1998). Segundo Gomide, Ramos e Fontes (2014), a etapa de escalda consiste no aquecimento úmido da carcaça visando o aumento da densidade das penas e da área de fricção, bem como maior abertura dos poros da epiderme, facilitando assim a etapa seguinte de depenagem.

A seção de escaldagem é concomitante à de depenagem. Essa última consiste na remoção da maior quantidade possível de penas, sem lesionar o tecido cutâneo. A depenagem úmida é realizada com o emprego de máquinas apropriadas, denominadas depenadeiras. As depenadeiras são túneis de aço inoxidável, com tambores rotativos (que giram em sentidos contrários) em toda a sua extensão, providos de “dedos” de borracha flexível que removem as

penas por fricção. É necessário o ajuste da máquina para evitar lesões, o que prejudica a qualidade da carcaça (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014). De acordo com o Regulamento técnico de inspeção tecnológica e higiênico sanitária de carnes de aves (BRASIL, 1998), as penas removidas são coletadas em canaletas (no piso) e enviadas por tubulações até a seção de subprodutos, para posterior fabricação de farinha de penas. Após a depenagem, segue-se o transpasse, que consiste em mudar as carcaças da nória de sangria e depenagem (área suja) para a nória de evisceração (área limpa).

Antes de seguir para as próximas etapas, as aves ainda na seção de depenagem passam pela máquina de escaldagem dos pés e pela removedora de cutícula. No entanto, os pés somente serão removidos após a etapa de evisceração (BRASIL, 1998).

Após a depenagem, as carcaças são lavadas em chuveiros de aspersão dotados de água hiperclorada sob adequada pressão, com jatos orientados no sentido de que toda a carcaça seja lavada, inclusive os pés. Esse processo é realizado para remover os restos de penas aderidas e também para minimizar a adesão bacteriana (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014).

Em sistemas de evisceração automática, as remoções dos pés e da cabeça são realizadas antes da etapa de evisceração. A remoção dos pés é feita por uma navalha circular de aço inoxidável, a qual corta a junção com a coxa, separando-os da carcaça. Os pés, ainda na nória, são automaticamente desenganchados caindo em outra calha, e conduzidos para a graxaria. As carcaças liberadas caem em uma calha, também de aço inox, que as conduz para uma mesa rolante e na sequencia para a etapa de evisceração. Nessa são penduradas em ganchos desenhados especificamente para a pendura pelo osso da coxa, sendo a seguir a cabeça removida, juntamente com a traqueia e o esôfago, por meio de um sistema manual, por oclusão do reto, sendo então descarregados e conduzidos à graxaria (BRASIL, 1998; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014).

O Regulamento técnico de inspeção tecnológica e higiênico sanitária de carne de aves (BRASIL, 1998) relata que as carcaças, antes da evisceração, podem ser conduzidas a uma nova lavagem para minimizar a adesão bacteriana. Regulamenta também que o processo de evisceração consiste na completa retirada (manual ou mecânica) das vísceras da carcaça, e este procedimento deve ser executado em instalação própria. A evisceração é realizada obrigatoriamente com as aves penduradas por trilhagem aérea, sob a qual deve ser instalada uma calha de aço inoxidável.

No processo não automatizado (clássico) de evisceração, após a lavagem das carcaças, é realizado um corte na pele do pescoço e concomitante ocorre à liberação da traquéia. Na sequencia, os pés das carcaças (as quais estavam até então dependuradas apenas pela cabeça)

também são colocados no gancho, de forma que o abdômen fique exposto para a evisceração. Tanto no processo automático quanto no processo clássico, antes da evisceração a cloaca é cortada e extraída com a utilização de uma pistola especial. Essa etapa requer muita habilidade e cuidado do operador para evitar possíveis contaminações (BRASIL, 1998; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014).

As etapas seguintes são a abertura do abdômen e a exposição das vísceras para a inspeção, realizada pelo Sistema de Inspeção Federal (SIF). Após a inspeção do SIF, removem-se os miúdos e vísceras. Primeiro separam-se o coração, o fígado e a moela, os quais são destinados às respectivas seções de limpeza e resfriamento. Em seguida, a alça intestinal, juntamente com o papo, esôfago e traqueia remanescente, é removida e lançada na calha de evisceração. Por fim, os pulmões são extraídos utilizando uma pistola a vácuo, sendo lançados em um depósito exterior à seção de evisceração e conduzidos à graxaria. Ainda na seção de evisceração, as carcaças são novamente lavadas, interna e externamente, por meio de jatos de água hipercolorada, para remoção de sangue coagulado, membranas e resíduos de vísceras remanescentes (BRASIL, 1998; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014).

Após a evisceração, as carcaças devem ser rapidamente resfriadas, para inibir o desenvolvimento microbiano e outros processos responsáveis por sua deterioração. O resfriamento é realizado por câmaras com circulação de ar frio, onde as carcaças permanecem penduradas nos ganchos com espaço suficiente para a circulação do ar frio. O tempo de permanência nas câmaras depende da temperatura e velocidade de circulação do ar frio, do número de carcaças na câmara, peso médio dos animais e quantidade de gordura de cobertura (BRASIL, 1998; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014).

Na sequência, as carcaças são cortadas (corte manual ou mecânico) e desossadas em cortes comerciais nobres, como peito, coxa, sobrecoxa, e em cortes de valor comercial mais baixo, como dorso, ponta da asa, entre outros. De acordo com os critérios da empresa, os cortes nobres podem ser desossados e filetados ou embalados para serem vendidos resfriados ou congelados. Os cortes de baixo valor comercial e os ossos com carnes residuais podem ser desossados mecanicamente, para a produção de carne mecanicamente separada (CMS), sendo os resíduos (ossos) enviados para a graxaria. A CMS obtida é utilizada em produtos industrializados (BRASIL, 1998; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014).

3.3 Transformação do Músculo em Carne

Após a morte do animal ocorre uma série de modificações bioquímicas e estruturais simultaneamente e são denominadas de processo de conversão do músculo em carne (KUBOTA; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 1993). A qualidade final da carne é diretamente afetada por estas reações, as quais dependem dos tratamentos *antemortem*, do processo de abate e das técnicas de armazenamento da carne (RAMOS; GOMIDE, 2007).

Com falência do fluxo sanguíneo provocada pela morte do animal, cessa o aporte de oxigênio, nutrientes e a retirada de catabólitos. No entanto, o nível de ATP é mantido por conversão de ADP a ATP (fosfocreatina + ADP creatina + ATP) devido à existência de reservas de glicogênio muscular e assim o músculo mantém a capacidade de se contrair e relaxar. Porém, quando cessa a reserva de fosfocreatina, seguida pelas reservas de glicogênio e outros carboidratos, é esgotado o ATP (rico em energia). O ATP é importante nos processos de contração muscular porque provoca o desligamento das proteínas contráteis (miosina e actina) e ativa a bomba ATP-dependente que conduz o Ca^{2+} do citoplasma para o interior do retículo sarcoplasmático. Logo, na ausência de ATP, o músculo não consegue mais relaxar (*rigor mortis*), os filamentos de actina e miosina combinam-se e a concentração de cálcio no citoplasma permanece alta. A célula muscular então passa a depender apenas do mecanismo glicolítico para suprir a demanda energética. A glicólise *post-mortem* ocorre em um ambiente celular anaeróbico, onde o glicogênio é convertido em ácido pirúvico e este é transformado em ácido láctico, o qual é acumulado no músculo (PEARSON; YOUNG, 1992; LAWRIE, 2005; ORDÓÑEZ et al., 2005; RAMOS; GOMIDE, 2007). Esse acúmulo resulta na queda do pH *post-mortem* a níveis bastante significativos, devido à elevada concentração de prótons que são produzidos durante a glicólise e a hidrólise de ATP (BATE-SMITH; BENDALL, 1949).

Em aves, a instalação do *rigor mortis* pode ocorrer em aproximadamente uma hora, porém segundo Dransfield e Sosnicki (1999) o tempo de queda do pH pode ser afetado por diversos fatores, tais como a espécie do animal, sua genética, condição nutricional, níveis iniciais de glicogênio, taxa de glicólise, tipo de músculo, temperatura em que o processo *post-mortem* ocorre e condições pré-abate (LAWRIE, 2005; CARVALHO et al., 2015; CARVALHO et al., 2016).

Logo após a morte do animal, o músculo ainda é elástico, pois ainda há uma quantidade suficiente de ATP presente, os miofilamentos conseguem deslizar e os íons Ca^{2+}

são ativamente transportados para o retículo sarcoplasmático pelo sistema bomba de cálcio-ATP. As mitocôndrias também armazenam o cálcio no músculo vivo que é proveniente do sarcoplasma em presença de O₂. No entanto, com a queda do pH, ATP, temperatura e ausência de O₂, as mitocôndrias liberam Ca²⁺ para o sarcoplasma ao mesmo tempo em que diminui a atividade da bomba de Ca²⁺. Logo, a concentração de Ca²⁺ aumenta nas miofibrilas dando início ao processo de contração, similar à estimulação nervosa que induz a contração do animal vivo. No processo de contração muscular *post-mortem*, enquanto a reserva energética estiver presente na forma de ATP, os miofilamentos actina deslizam-se ao longo de miosina e por esta razão o músculo torna-se elástico. No entanto, quando o nível de ATP reduz, ou seja, diminui a energia para que ocorra o processo de deslizamento dos miofilamentos, inicia-se a formação de pontes permanentes entre os miofilamentos (actina e miosina), o músculo perde a elasticidade e/ou flexibilidade e entra em *rigor mortis* (BENDALL, 1951; JEACOCKE, 1993; SWATLAND, 1994; MACLENNAN; RICE; GREEN, 1997).

Após um determinado tempo do processo de *rigor mortis*, inicia-se a fase de resolução do *rigor mortis*, conhecida como *post-rigor mortis* ou maturação (amaciamento) da carne. Essa fase é caracterizada pelo amaciamento progressivo da carne devido à atividade de enzimas proteolíticas presentes no músculo, as quais hidrolisam as proteínas musculares (calpaínas), provocando o rompimento dos miofilamentos, mais especificamente nos discos Z. Assim, devido ao enfraquecimento da miofibrila há conseqüentemente o amaciamento da carne. As principais enzimas proteolíticas responsáveis pela degradação das proteínas miofibrilares são as calpaínas, a u-calpaína (dependente de 5 a 50 µM de íons Ca²⁺ para sua atividade), m-calpaína (requer de 300 a 1000 µM de íons Ca²⁺ para sua atividade) e proteases lisossômicas como catepsinas D, B, H e L (KOOHMARAIE, 1988; MALTIN et al., 2003; KOOHMARAIE; GEESINK, 2006; SHIMOKOMAKI et al., 2006)

3.4 Carnes PSE

O termo PSE origina-se das iniciais das palavras *Pale*, *Soft* e *Exudative*, que significam carnes com aspecto superficial pálido, textura macia (extrema flacidez) (WISMER-PEDERSEN, 1959) e baixa capacidade de retenção de água (CRA) (OLIVO, 2002). Estas alterações nas carnes são geradas devido a uma rápida glicólise *post-mortem*, ocasionada pelo rápido abaixamento do pH, enquanto a carcaça ainda está quente (BARBUT et al., 2008), levando a desnaturação das proteínas (OLIVO et al., 2001a). O aspecto pálido e,

em especial o exudativo, condiciona a depreciação da carne pelo consumidor, distribuidor e retalhista (RAMOS; GOMIDE, 2007).

Reconhecido como um problema para a indústria cárnea, a ocorrência do fenômeno PSE em aves começou a ser constatado no final das últimas décadas, devido ao rápido crescimento da produção de industrializados de carnes de aves e com isso o aumento dos problemas com a textura, coesividade, suculência e rendimento dos produtos (OLIVO, 2006).

Em suínos, existem relatos de uma síndrome que é desencadeada por fatores causadores de estresse, conhecida como PSS (*Porcine Stress Syndrome*) (CHEAH et al., 1984) ou hipertermia maligna (HM) (FUJII et al., 1991). Essa síndrome aguda e fatal resulta de uma rápida elevação da temperatura corpórea apresentada por suínos susceptíveis ao estresse (MACLENNAN; PHILLIPS, 1992). Estes animais podem morrer inesperadamente em resposta ao estresse ambiental e fisiológico, como mudanças na temperatura ambiente, excitação, transporte e exercícios (CHEAH; CHEAH, 1981a; CHEAH et al., 1984). Esta síndrome é desencadeada devido à elevada concentração de Ca^{+2} no sarcoplasma, o qual prolonga a atividade contrátil muscular e a quebra do glicogênio, resultando em aumento na produção de calor (MICKELSON e LOUIS, 1996). O aumento no nível de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático pode ser o responsável pelos eventos bioquímicos que conduzem à severa acidose devido o aumento da formação de ácido láctico (CHEAH; CHEAH, 1981a,b). A excessiva concentração de Ca^{2+} durante a instalação de carne PSE promove o aumento da atividade de enzimas cálcio dependente como a fosfolipase A_2 (PLA_2) (CHEAH; CHEAH; KRAUSGRILL, 1995; SOARES et al., 2003) e as calpaínas (SANTOS et al., 2008; WILHELM et al., 2010).

Em animais sensíveis ao estresse pode ocorrer a mutação no gene rianodina (RYR1) durante o processo de contração muscular, o que provoca a manutenção do canal regulador de Ca^{2+} aberto, permitindo um maior influxo de Ca^{2+} no interior do sarcoplasma (MICKELSON; LOUIS, 1996). Devido à manutenção do canal no estado aberto, torna-se difícil a remoção do cálcio do sarcoplasma, para permitir o relaxamento do músculo, permanecendo, assim, em contínua contração e resultando em um aumento do metabolismo muscular, da temperatura corporal e do acúmulo de ácido láctico (MACLENNAN; PHILLIPS, 1992).

Os suínos PSS mostram tendência em desenvolver carnes com características PSE (*Pale, Soft e Exudative*) (CHEAH et al., 1984). Quanto ao PSE em perus, ainda não há confirmação de equivalência com a PSS em suínos (SANTOS; BRANDELLI; AYUB, 2004). Entretanto, segundo Sosnick et al. (1998) há várias semelhanças entre o desenvolvimento da carne PSE em peitos de perus e em suínos. Isso ocorre, pois, perus expostos ao estresse pré-

abate, com aquecimento ou agitação exibem um acelerado declínio no pH (FRONING; BABJI; MATHER, 1978; CARVALHO et al., 2015). Assim, a causa final da síndrome em perus, ainda está sendo investigada e, no entanto, pode ocorrer uma combinação de sensibilidade ao estresse *antemortem* de perus e o metabolismo predominantemente glicolítico do músculo resultando em processo de *rigor mortis* acelerado (MCKEE; HARGIS; SAMS, 1998; CARVALHO et al., 2015; CARVALHO, 2016). Mckee, Hargis e Sams (1998) relataram que o *rigor mortis* acelerado pode contribuir para o desenvolvimento de carnes de peru com características que são similares às aquelas encontradas em carnes PSE de suínos.

Os principais fatores responsáveis por desencadear situações de estresse em aves e causar alterações fisiológicas no período pré-abate são: intervalo de jejum e dieta hídrica, transporte e temperatura do ambiente (SAMS; MILLS, 1993; WARRIS; KESTIN; BROWN, 1993; NORTHCUTT; FOEGEDING; EDENS, 1994; SANDERCOCK et al., 2001; BRESSAN; BERAQUET, 2002; SIMÕES et al., 2009; CARVALHO, 2016). As interações entre temperatura, umidade relativa, radiação solar e velocidade do vento podem resultar em estresse térmico (LIN et al., 2006). O conforto térmico se caracteriza por uma faixa de temperatura e umidade relativa ambiente onde a taxa metabólica é mínima e a homeostase é mantida com o menor gasto de energia possível (MITCHELL; KETTLEWELL, 1998).

Portanto, o manejo pré-abate inadequado pode comprometer o bem-estar animal, causando contusões, fraturas, arranhões, exaustão metabólica, desidratação, estresse de temperatura e até morte. Todos podem ocorrer durante o transporte inadequado e, portanto, segundo Oda et al. (2003) o processo de manejo pré-abate deve ser realizado com o máximo cuidado e nas horas mais frescas do dia para minimizar esse estresse térmico. O manejo dos animais, durante o período *antemortem* pode ter um efeito importante na redução da qualidade da carcaça (ROÇA; SERRANO, 1995), já que o estresse térmico é um dos fatores ambientais mais importantes *antemortem* que causam uma rápida glicólise *post-mortem* (DRANSFIELD; SOSNICK, 1999), ocasionando o desenvolvimento de carne PSE.

A importância do banho de aspersão de água associado à ventilação antes do abate de frangos, foi observado por Guarnieri et al. (2002) no qual observaram que o banho contribui para recuperação da normalidade fisiológica (homeostase) e repercute positivamente nos processos bioquímicos. Esta etapa também evita o desencadeamento do fenômeno PSE nos filés de peito de frangos, sendo então uma prática adotada atualmente pelas empresas.

De acordo com Simões et al. (2009), o microambiente térmico formado no caminhão de transporte de frangos da granja ao abatedouro pode ser a principal causa que compromete a qualidade final da carne e desenvolve a anomalia PSE em frangos. E em alguns pontos do

caminhão, como meio e fundo ocorre o aumento da temperatura e da umidade relativa, e a aplicação de um banho de água sobre os frangos após o carregamento foi benéfica para o transporte, dependendo da distância percorrida pelo caminhão e pode desta forma, reduzir a incidência de PSE.

No Brasil, de acordo com Carvalho (2016), durante o transporte de perus, da fazenda de criação ao abatedouro, também ocorre a formação de microambiente térmico no interior do veículo o que afeta o bem-estar das aves e promove o desenvolvimento de carnes PSE. O autor relatou ainda que a aplicação de um banho de água na fazenda, ou seja, antes do transporte, reduziu a ocorrência de carnes PSE no verão e, no entanto, no inverno provocou um aumento na incidência de carnes PSE de peru.

Portanto, os fatores que causam o estresse em aves, podem levar a um rápido declínio do pH enquanto a carcaça ainda está quente, o que resulta em um metabolismo *post-mortem* acelerado (SAMS et al., 2002). Nas primeiras horas após o abate, ocorre a rápida glicólise e diminui o pH a valores menor do que 5,8 segundo Shimokomaki (2004).

A combinação do baixo pH e de temperatura mais elevada (35°C) provocam a desnaturação das proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares, (OLIVO et al., 2001; BARBUT et al., 2008), o que compromete as propriedades funcionais da carne que confere características pobres de processamento, como a diminuição do rendimento dos produtos e consequentes perdas econômicas (OLIVO, 2006). A perda na qualidade ocorre, pois as proteínas são as principais responsáveis pelas características funcionais das matérias-primas cárneas (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

Olivo e Shimokomaki (2001) e Guarnieri et al. (2002) destacaram que a desnaturação parcial das proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas causam palidez da carne e perda na capacidade de retenção de água resultando em carne com aspecto de superfície molhada, causando problemas tecnológicos como redução na capacidade de emulsificação, força do gel enfraquecida, diminuição do rendimento, baixa coesividade, textura inadequada e quebras no fatiamento que influenciam diretamente na qualidade final e no desempenho financeiro dos produtos industrializados .

A determinação da anomalia PSE em carnes de aves tem sido realizada pela combinação das análises de pH, cor e algumas propriedades funcionais. A palidez da carne está relacionada com a desnaturação proteica causada pelo abaixamento do pH. Assim, com a desnaturação proteica, aumenta-se a birrefringência com menos luz transmitida pelas fibras e mais luz dispersa e como consequência, a carne apresenta-se pálida (BENDAL; SWATLAND, 1988; SWATLAND, 1995). Alguns pesquisadores propõem a utilização de

valores de luminosidade L^* (sistema CIELAB ou Hunter) para classificação de carnes de peru em PSE e Normal (BARBUT, 1993; BARBUT, 1998; FRAQUEZA et al., 2006).

Carvalho et al. (2014) verificaram que a incidência de carnes PSE de peru no Brasil foi de 41,7% e estabeleceram um valor de corte de luminosidade, $L^* \geq 53$ para caracterização destas carnes no Brasil. Ainda, concluíram que a utilização de carnes PSE de peru em industrializados cárneos resultaram em perdas de peso de 5-10%, provocando perdas econômicas para a indústria de processamento de carne de peru.

3.5 Proteases na Carne PSE

Em carnes PSE, a perda da homeostase, gerando níveis elevados de cálcio acarreta em um aumento da sua concentração intracelular e ativação das calpaínas. A perda do equilíbrio de cálcio altera alguns processos fisiológicos que regulam a atividade das calpaínas nas células e provoca uma atividade desregulada das mesmas (GOLL et al., 2003).

Pesquisas correlacionando a atividade proteolítica e o desenvolvimento da anomalia PSE em perus são escassas. Entretanto, em suínos, há evidências que o declínio do pH durante as primeiras horas após a sangria influenciam a taxa de ativação de u-calpaína e pode ter um papel fundamental na regulação da atividade proteolítica no início do período *post-mortem*, implicando em consequências para a CRA e a maturação, no prolongamento do período *post-mortem* (MELODY et al., 2004; ROWE et al., 2001; O'HALLORAN et al., 1997; BOLES et al., 1992; BEE et al., 2007).

Soares (2003) investigando as ultraestruturas de filés de frango PSE 72 h *post-mortem* observou que ocorreu o espessamento das linhas Z, desaparecimento da banda I e encurtamento no tamanho do sarcômero. Portanto, observou-se que houve o surgimento de lacunas no sarcômero e em alguns casos a linha Z perdeu sua integridade apresentando-se descontinuada. Enquanto que Guarnieri et al. (2004) verificaram por meio de técnicas microscópicas, que frangos tratados com nebulização de água antes do abate com objetivo de prevenir o desenvolvimento de carnes PSE, apresentaram o sarcômero com uma estrutura organizada e a linha Z apresentou-se enfraquecida devido à atividade das proteases. Enquanto que no grupo não tratado a estrutura do sarcômero apresentou-se desorganizada e a linha Z mais pronunciada.

3.6 Qualidade da Carne

3.6.1 COR

A cor é um dos atributos mais importantes na percepção do consumidor quanto à qualidade da carne, pois é uma característica que influencia tanto a escolha inicial do produto pelo consumidor como a aceitação no momento do consumo (FLETCHER, 1999).

Os pigmentos cárneos são constituídos por duas proteínas: a hemoglobina que é o pigmento do sangue e a mioglobina que é o pigmento dos músculos, ambas são proteínas globulares com grupo prostético heme (ANTONINI, 1965). A maioria da hemoglobina presente no músculo vivo é removida quando o animal é abatido, sendo a mioglobina responsável pela pigmentação de carnes obtidas de animais bem sangrados (RAMOS; GOMIDE, 2007).

De acordo com Olivo, Guarnieri e Shimokomaki (2001) a cor observada na superfície das carnes é o resultado da absorção seletiva da luz pela mioglobina e por outros importantes componentes, como as fibras musculares e suas proteínas, sendo também influenciada pela quantidade de líquido livre presente na carne.

A mioglobina é uma proteína conjugada que consiste de um grupo prostético, heme, ligado a uma molécula de proteína globular, denominada de globina. O grupo heme da molécula de mioglobina apresenta estrutura tetrapirrólica cíclica, denominada de anel de porfirina. Este anel porfirínico encontra-se unido à proteína globular. No centro do anel há um metal específico (o ferro), o qual se encontra ligado à globina por meio de um resíduo de histidina proximal da cadeia polipeptídica. O estado químico do átomo de ferro influi diretamente na tonalidade de cor percebida pela visão humana. Assim, o estado de oxidação do átomo ferro (oxidado ou reduzido) e o tipo de ligante a ele associado determinam a cor e a reatividade da mioglobina na maioria das reações (RAMOS; GOMIDE, 2007; SHIMOKOMAKI et al., 2006).

A mioglobina pode sofrer oxidação, sendo o ferro heme convertido para o estado férrico (Fe^{3+}), proporcionando à carne fresca uma coloração marrom escura e denominada de metamioglobina (MMb) (WALLACE et al., 1982). A oxidação da mioglobina pode ser acelerada por íons metálicos, como cobre e ferro, sendo que estes podem estar presentes na água ou em derivados de equipamentos utilizados no processamento da carne (LYNCH et al., 1999). A outra forma química da mioglobina é a reduzida ou desoximioglobina (Mb^+) de

coloração vermelho-púrpura, com molécula de água ligada ao átomo de ferro, que está no estado Fe^{2+} ; é o estado em que o músculo vivo se apresenta. Quando a mioglobina encontra-se ligada ao oxigênio, a carne apresenta uma coloração vermelho brilhante, portanto, o ferro encontra-se no estado Fe^{2+} e a sua forma é a oximioglobina (MbO_2), coloração característica de carnes frescas expostas ao oxigênio (RAMOS; GOMIDE, 2007; SHIMOKOMAKI et al., 2006). Além destes, podem ocorrer outros estados químicos do pigmento heme presentes na carne, relacionados com a valência do átomo de ferro, com o estado do anel porfirínico e/ou com o estado da globina, conferindo assim outras possibilidades de cores, as quais podem ser desejadas e outras indesejáveis (RAMOS; GOMIDE, 2007; SHIMOKOMAKI et al., 2006).

A carne com predominância de fibras vermelhas possui maior concentração de mioglobina do que aquelas em que há predominância de fibras brancas. Dependendo do tipo de músculo com predominância de fibras brancas, a quantidade de mioglobina é quase, ou praticamente, indetectável. A falta de pigmentação nos músculos do peito de perus, frangos e galinhas, por exemplo, é desejada pelo consumidor (RAMOS; GOMIDE, 2007).

Os parâmetros utilizados na avaliação da cor da carne baseiam-se nos sistemas colorimétricos denominados Hunter Lab (valores L, a, b) e CIELab (L^* , a^* , b^*). Ambas se correlacionam muito bem com as análises sensoriais; as coordenadas luminosidade ($L^*=100$ indica coloração branca e $L^*=0$ indica preto), coordenadas vermelho/verde (+a indica vermelho e -a indica verde) e coordenadas amarelo/azul (+b indica amarelo e -b indica azul) (MINOLTA, 1998). Tanto a escala Hunter Lab quanto a CIELab estão em uso, mas esta última vem ganhando mais suporte por ser um padrão internacional, além de ser construída a partir da escala Hunter Lab. A sigla CIELab é composta pelas iniciais da comissão que estabeleceu o sistema (*The Commission Internationale de L'Eclairage*, em 1976) e suas escalas de cor (luminosidade, representada por L^* , cor verde a vermelho representado por a^* e cor de azul a amarelo, representado por b^*).

A estrutura física da carne diz respeito às suas habilidades em absorver e, ou, dispersar a luz incidente. Segundo Anadón (2002) a dispersão de luz de uma superfície muscular é diretamente proporcional à sua quantidade de desnaturação protéica e segundo Lawrie (2005) e LeBihan-Duval et al. (2003) interfere na aparência física da carne e influencia a quantidade de luz que é refletida. Segundo Olivo, Guarnieri e Shimokomaki (2001) quanto maior o grau de desnaturação protéica, menos luz é transmitida através das fibras e mais luz acaba sendo dispersa, o que leva à palidez da carne.

3.6.2 Capacidade de retenção de água

A capacidade de retenção de água é outra característica importante da qualidade de carne e trata-se de um termo utilizado para descrever a capacidade do músculo em reter a água inerente da carne ou a água adicionada, de modo a inibir a exsudação sob aplicação de forças externas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A água no músculo é retida em sua maior parte intracelularmente e também entre as miofibrilas (OFFER; KNIGHT, 1988). A capacidade de retenção de água influencia o aspecto da carne e a palatabilidade e, está diretamente relacionada às perdas de água antes e durante o cozimento (BRESSAN; PERES, 2001). Trata-se, portanto, de uma medida da capacidade da carne ou de um produto derivado em manter seu conteúdo aquoso durante a aplicação de forças gravitacional (estocagem e *drip loss*), mecânicas (compressão, cisalhamento) ou térmica (cozimento) (ORDÓNEZ et al., 2005).

A habilidade de reter a água é uma propriedade importante da carne, principalmente sob o aspecto econômico e sensorial já que se trata da habilidade do músculo em reter a água endógena. A CRA é afetada pelo pH (efeito de carga líquida) e pelo espaçamento entre as estruturas proteicas no músculo (efeito estérico) (FLORES; BERMELL, 1984; ROÇA, 2016).

A consequente queda do pH *post-mortem* e, por conseguinte o teor de proteína desnaturada são responsáveis pela diminuição da capacidade de reter água da carne (FLORES; BERMELL, 1984; SHIMOKOMAKI et al., 2006). Esse fenômeno ocorre, pois o baixo pH pode causar a desnaturação das proteínas musculares e como consequência a sua perda de solubilidade. Desta forma, as proteínas reduzem a capacidade de atrair a água (FLORES; BERMELL, 1984; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2001).

Offer e Knight (1988) relataram que o declínio de pH *post-mortem* altera a composição celular e extracelular das fibras musculares, resultando em redução de grupos reativos disponíveis para reter água nas proteínas. De acordo com Felício (1986) a retenção da água pelas proteínas da carne depende do pH, sendo que quanto mais próximo de 5,0 (ponto isoelétrico), menor será a CRA.

Se o pH do músculo estiver acima do ponto isoelétrico, as cargas positivas desaparecem permanecendo um excesso de cargas negativas que proporcionam a repulsão dos filamentos deixando mais espaço para as moléculas de água. No entanto, se o pH do músculo estiver abaixo do ponto isoelétrico, há predomínio de cargas positivas e portanto, as proteínas musculares possuem redução na capacidade de atrair as moléculas de água. No ponto

isoeletrico há presença de cargas positivas e negativas, o que permite uma maior interação proteína-proteína e, portanto menor afinidade da proteína pela água (FLORES; BERMELL, 1984; ROÇA, 2016).

As interações proteicas associadas ao processo de *rigor-mortis* também são responsáveis pela redução da CRA. A queda do ATP e as interações proteicas (*rigor-mortis*) são responsáveis pela formação de uma rede espessa das proteínas contráteis. Alguns íons, especialmente cátions divalentes, como cálcio e magnésio, tem a propriedade de combinar-se com os grupamentos das proteínas carregados negativamente, aproximando as cadeias proteicas entre si e assim impedindo que os grupamentos hidrofílicos se liguem à água. A falta de espaço das moléculas de água na estrutura proteica é conhecida como efeito estérico da retenção de água (FLORES; BERMELL, 1984; ROÇA, 2016).

3.6.3 Textura

A textura é outro fator importante na percepção do consumidor quanto à qualidade da carne (BRESSAN; PERES, 2001), pois caracteriza sensorialmente a maciez da carne. Sendo, portanto um importante atributo de qualidade, do ponto de vista do consumidor, uma vez que estes consideram a maciez como a característica sensorial de maior influência no julgamento da qualidade da carne (PELICANO; PRATA, 2007). A textura pode ser considerada a manifestação sensorial da estrutura da carne e a maneira com que essa reage à força aplicada durante a mastigação e a outras sensações específicas envolvidas no ato de degustação (RAMOS; GOMIDE, 2007). Para Lawrie (2005), a impressão global da textura envolve três aspectos: a facilidade de penetração dos dentes na carne, facilidade de fragmentação ou ruptura da carne e a quantidade de resíduos após a mastigação.

Logo, a maciez é um atributo da textura e, como o próprio nome indica, carnes macias são aquelas que apresentam textura macia e, ou, de pouca resistência ao corte. Desta forma, qualquer fator que contribua para a textura final da carne impactará sobre a sua maciez (RAMOS; GOMIDE, 2007).

A maciez é decorrente do processo de degradação de algumas proteínas estruturais por enzimas endógenas. O grau de maciez está relacionado com três tipos de proteínas do tecido muscular: miofibrilares (solúveis em soluções salinas), do tecido conjuntivo (solúveis em meio ácido) e as sarcoplasmáticas que são solúveis em água (LAWRIE, 2005; KOOHMARAIE et al., 2002).

O processo de amaciamento da carne se inicia após o abate (*post-mortem*), durante o processo de maturação, podendo ser variado entre as diferentes espécies (VEISETH et al., 2001). As evidências sugerem que a proteólise das proteínas miofibrilares é a causa do amaciamento da carne (BEE et al., 2007; KRIESE et al., 2007; WILHELM et al., 2010). As calpaínas, proteases ativadas por cálcio, presentes no sarcoplasma, são, juntamente com as catepsinas, proteases ácidas que se encontram nos lisossomos, as enzimas capazes de hidrolisar proteínas miofibrilares (VARNAM; SUTHERLAND, 1995). As proteínas miofibrilares estão envolvidas em: a) ligações intermiofibrilares (desmina e vinculina); b) ligações intramiofibrilares (titana, nebulina e possivelmente a troponina T); c) ligações das miofibrilas ao sarcolema por costâmeros (vinculina e distrofina) e 4) ligações de células musculares com a lâmina basal (laminina e fibronectina). A função destas proteínas é manter a integridade estrutural das miofibrilas (PRICE, 1991). A degradação proteolítica destas proteínas causa o enfraquecimento das miofibrilas e, conseqüentemente, o amaciamento da carne.

A importância relativa das atividades das calpaínas e catepsinas no processo de amaciamento da carne tem sido estudada constantemente. Uma vez que as calpaínas possuem atividade ótima em pH neutro ($\text{pH} > 6,0$) e as catepsinas atividade ótima em pH ligeiramente ácido, e portanto, é possível que as calpaínas são de grande importância nas primeiras horas *post-mortem*, enquanto o pH encontra-se acima de 6,0. A partir daí, à medida que ocorre a acidificação muscular, as catepsinas assumiriam a responsabilidade pela proteólise (RAMOS; GOMIDE, 2007; SHIMOKOMAKI et al., 2006).

O comprimento do sarcômero, o conteúdo do tecido conjuntivo e sua solubilidade e a proteólise das proteínas miofibrilares são importantes para explicar a variação do amaciamento observado na carne. Entretanto, a contribuição relativa de cada um destes componentes é dependente do músculo. Por exemplo, o comprimento do sarcômero é o maior determinante do amaciamento do músculo *M. Psoas major* em bovinos, já que esse músculo possui sarcômeros muito longos. Já a proteólise é prioritária no amaciamento do músculo *Longissimus* e o conteúdo de tecido conjuntivo é o maior interferente do amaciamento de músculos tais como *Biceps femoris* e *Semimembranosus* (KOOHMARAIE et al., 2002).

A medida de textura e maciez da carne pode ser realizada por meio da análise de textura, a qual utiliza equipamentos específicos (análise instrumental), denominados texturômetros que são capazes de avaliar diversos parâmetros reológicos da carne. O índice de fragmentação miofibrilar, pode ser outro método utilizado para prever a maciez da carne (BRATZLER, 1949; RAMOS; GOMIDE, 2007).

3.7 Cortes da Carne de Peru

As carnes de aves são consideradas fontes de proteína animal de alta qualidade e possuem um papel significativo na manutenção da saúde e nutrição das pessoas (SHAHZAD et al., 2011). E como destaque pode-se citar a carne de peru, pois de acordo com o Conselho de Exportação de Carne de Aves e Ovos dos Estados Unidos da América (USAPEEC, 2016) a carne de peru é uma carne muito nutritiva, pois apresentam baixos níveis de colesterol, lipídeos totais e altos conteúdos de ácidos graxos poliinsaturados, além de ser rica em proteínas e outros nutrientes importantes. Assim sendo, a carne de peru tornou-se bastante atrativa devido ao apelo dos consumidores por alimentos mais saudáveis. O sabor neutro e a textura suave também são outros fatores importantes para o crescimento e ocupação desta carne no mercado (MAJUMDAR et al., 2000; BAGGIO; VICENTE; BRAGAGNOLO, 2002).

A comercialização de partes ou cortes de carnes de peru, *in natura*, para consumo humano (UNECE, 2012) pode ser realizada na forma de: (1) peru inteiro, no qual a carcaça inteira é comercializada e pode conter os miúdos; (2) peito, podendo ser comercializado com ou sem osso e com pele ou sem; (3) coxa; (4) sobrecoxa; (5) asa; (6) pescoço, pode ser comercializado sem pele ou então junto com os miúdos; (7) coxa e sobrecoxa (*leg quarter*), no entanto, este produto vem sendo cada vez menos comercializado; (8) sambiquira, são geralmente embalados e comercializados a granel; (9) miúdos; (10) pele e (11) carne mecanicamente separada.

De acordo com Baggio, Vicente e Bragagnolo (2002) o teor de lipídeos totais na asa, *leg quarter* (coxa com sobrecoxa), peito e pele de peru são respectivamente de 0,9 g/100g, 1,1 g/100g, 0,5 g/100g e 12 g/100g, e o conteúdo de colesterol de 46 mg/ 100 g, 35 mg/100g, 27 mg/100g e 81 mg/100 g para os mesmos cortes. Relataram ainda que os principais ácidos graxos identificados nestes cortes foram o ácido linoléico (C18:2n6), ácido oleico (C18:1n9), ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0) e ácido araquidônico (C20:4n-6). Desta forma, os autores confirmaram que os cortes de peru avaliados são boas alternativas de fonte nutricional para a dieta humana, pois apresentaram baixos valores de lipídeos totais e colesterol e altos conteúdos de ácidos graxos poliinsaturados.

Leeson e Summers (1980), Veldkamp et al. (2000) e Majumdar et al. (2005) descreveram que a idade dos perus tem efeito significativo sob a qualidade nutricional e rendimento da carne e os seus cortes.

No entanto, ainda não há mais relatos sobre estudos individuais e qualitativos a respeito dos cortes em que a carne de peru, *in natura*, é comercializada.

3.8 Subprodutos da Indústria Avícola

Uma grande evolução na produção avícola tem sido observada nas últimas décadas. No entanto, o aumento produtivo ocorre com o crescimento na geração de subprodutos industriais (SUNADA et al., 2015). O termo subproduto é amplamente utilizado e nele estão englobados tanto os resíduos sólidos quanto os líquidos e os materiais presentes nas emissões atmosféricas (BERNARDI, 2011).

Os resíduos industriais, após a sua geração, necessitam de um destino adequado já que não podem ser acumulados de forma indefinida no local em que foram produzidos, evitando assim a poluição ambiental (PELIZER, 2007). As principais fontes de geração de resíduo, na cadeia produtiva avícola foram descrito como: incubatório, matrizeiro, aviário e abate no frigorífico (BERNARDI, 2011).

No entanto, de acordo com Jayathilakan et al. (2012) a maioria dos resíduos na indústria cárnea é produzido durante o abate. E consiste de partes do animal abatido que não podem ser embalados e comercializados, tais como: papo, traquéia, esôfago, conteúdos do trato gastrointestinal, baço, órgãos reprodutores e pulmões. Os subprodutos não comestíveis são destinados à seção de graxaria, a qual promove o aproveitamento destes subprodutos principalmente para a produção de farinhas (destinadas à alimentação animal) e óleos (BRASIL, 1998). A retirada e destino dos rins, pés, pescoço e cabeça durante o abate é facultativa. No entanto, quando os pés e pescoço com ou sem cabeça são retirados na linha de evisceração para fins comestíveis, deverão ser imediatamente pré-resfriados; e a cabeça e os pés obrigatoriamente deverão ser embalados individualmente (BRASIL, 1998). No entanto, como a retirada das cabeças das aves é facultativa pela legislação brasileira, a sua utilização como fonte de matéria-prima para extração de produtos que agreguem valor torna-se atrativa. Assim sendo, a indústria cárnea tem buscado investigar alternativas para o emprego destes subprodutos gerados durante o processamento. E por estes “subprodutos” possuírem substâncias de alto valor comercial, tal como o colágeno, podem então tornar fonte de matéria-prima para a sua extração.

No Brasil, o colágeno é proveniente de subprodutos da indústria de carne devido à grande produção brasileira deste produto (SILVA; PENNA, 2012). A crescente busca por

subprodutos industriais como fonte para a extração de colágeno a partir de diferentes espécies de animais é devido ao grande interesse pelo aumento da produção e aplicação desta proteína (ZHANG et al., 2007; SILVA; PENNA, 2012; LAFARGA; HAYES, 2014).

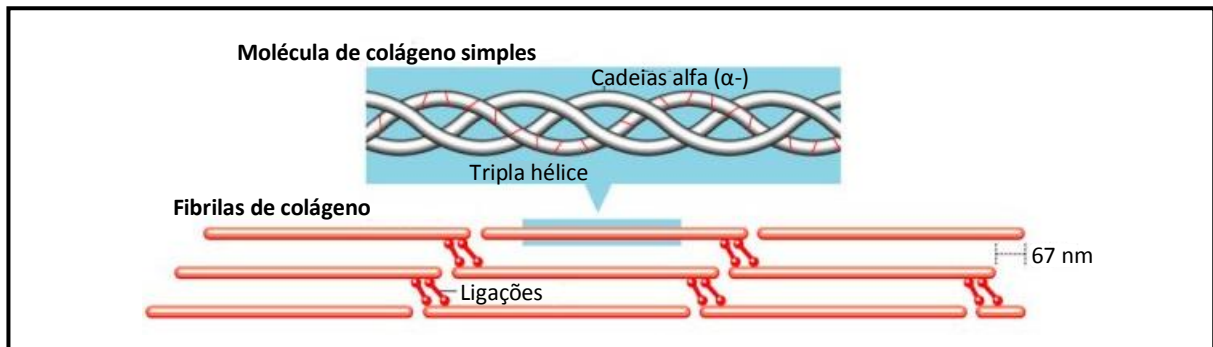
Uma fonte alternativa para a extração de colágeno são as barbelas de peru, as quais são tuberosidades carnosas localizadas no pescoço dos animais e podem ter coloração vermelha ou cinza, a qual se desenvolve em resposta aos hormônios masculinos. Em situação de animação, medo, raiva, alerta ou quando ocorrem alterações de humor, as barbelas podem mudar temporariamente de cor (DYCE; SACK; WENSING, 2004; BARATTI et al., 2010). A outra função das barbelas é a sua propriedade termorregulatória, ou seja, auxiliam na homeostase dos animais (BUCHHOLZ, 1996). Ainda não há publicações que relatem maiores características sobre as barbelas de peru, no entanto, sabe-se que há grande quantidade de tecido conjuntivo nestas tuberosidades e, portanto, podem caracterizar uma matéria-prima importante para obtenção e isolamento de colágeno.

3.9 Colágeno

O colágeno é a proteína estrutural dominante do tecido conjuntivo, correspondendo a aproximadamente 30% do total de proteínas e está presente como constituinte de pele, tendões, cartilagens, órgãos e ossos (SHIMOKOMAKI et al., 2006; SHOULDERS; RAINES, 2009; RICARD-BLUM, 2011). Nos músculos, o colágeno também está presente, porém a sua distribuição não é uniforme e depende da quantidade de fibras colágenas presentes. Pois, a textura do músculo é influenciada diretamente pela quantidade de fibras colágenas (LIRA, 1997), as quais variam de acordo com a idade do animal (NAKAMURA et al., 1975; LIRA, 1997, DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010) e a sua localização (NAKAMURA et al., 2004).

O termo “colágeno” é utilizado para denominar uma família de pelo menos 27 proteínas isoformas encontradas nos tecidos conjuntivos que possuem como unidade básica o tropocolágeno. Este é formado por três cadeias de polipeptídeos, denominadas de cadeias alfa (α -) que se entrelaçam como uma bobina, em um formato helicoidal, formando uma molécula linear com 180 nm de comprimento, 1,4 a 1,5 nm de largura (Figura 1). As cadeias alfa (α -) podem ser idênticas ou podem diferir na sequência de aminoácidos, dependendo do tipo de colágeno (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; ROSS; PAWLINA, 2010).

Figura 1. Estrutura típica da molécula de colágeno



Fonte: Adaptado de MATHEWS; VAN HOLDE; AHERN (1999).

As cadeias alfa (α -) podem conter de 600 até 3.000 resíduos de aminoácidos e são formadas por uma sequência de aminoácidos repetida ao longo da cadeia de $(\text{Glicina} - \text{X} - \text{Y})_n$, onde o resíduo X é a prolina e o Y pode ser hidroxiprolina ou hidroxilisina. Os outros aminoácidos são formados por hidroxilação pós-translacional de prolina e lisina pela prolil hidroxilase e pela lisil hidroxilase, respectivamente. De forma geral, os colágenos contêm cerca de 33% de glicina, 12% de prolina, 11% de alanina, 10% de hidroxiprolina, 1% de hidroxilisina e pequenas quantidades de aminoácidos polares e carregados (BAILEY; LIGHT, 1989; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). O aminoácido hidroxiprolina é responsável pela estabilidade térmica da molécula, propriedade de gelificação, absorção de umidade e utilizado como indicador do teor de colágeno, pois este aminoácido está presente em quantidade significativa somente em proteínas colagênicas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; RICARD-BLUM, 2011).

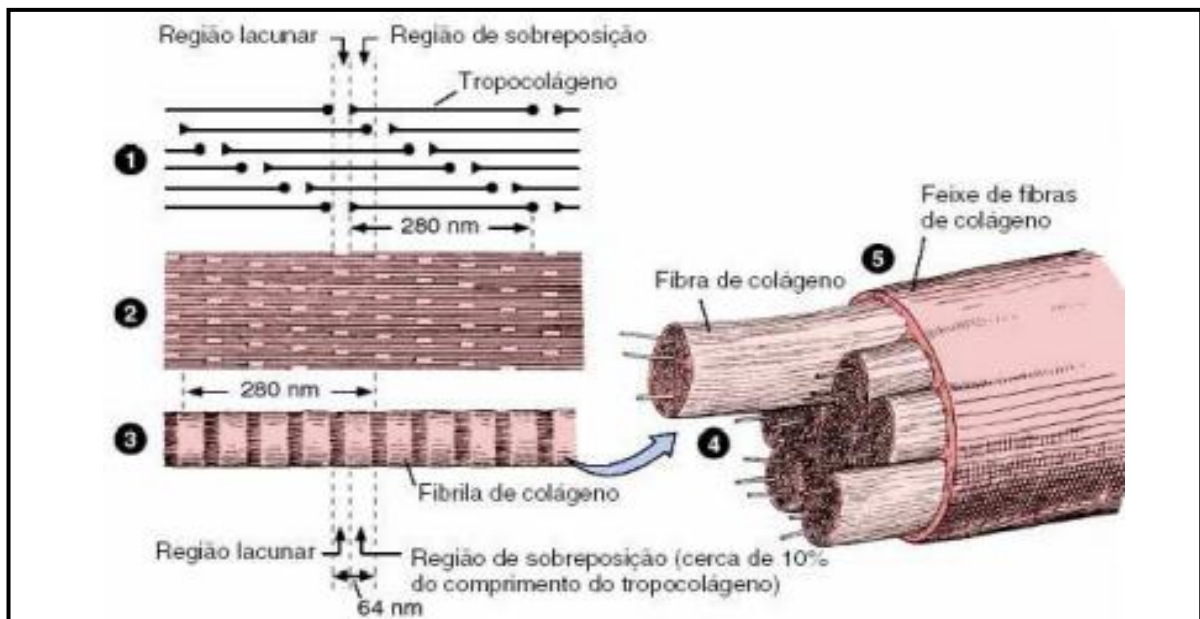
As cadeias alfa (α -) ficam posicionadas de forma em que todos os resíduos de glicina encontram-se no centro da tripla hélice, enquanto que nas cadeias laterais (posição mais externa) encontram-se os demais aminoácidos (GELSE; POSCHL; AIGNER, 2003).

De acordo com Damodaran, Parkin e Fennema (2010) e Ricard-Blum (2011), as cadeias alfa (α -) são numeradas com algarismos arábicos e a sequência característica de aminoácidos do colágeno determina o dobramento e a montagem da família de suas proteínas. No caso do colágeno tipo I, esse é formado por duas cadeias idênticas de polipeptídeos denominadas de $\alpha 1(\text{I})$ e por uma cadeia com uma sequência diferente de aminoácidos denominada de $\alpha 2(\text{I})$. Já o tipo III é constituído por três cadeias iguais $\alpha 1(\text{III})$. Os numerais arábicos são utilizados para identificar diferentes cadeias de colágeno dentro de um determinado tipo, enquanto os numerais romanos referem-se ao tipo de colágeno.

Com a desnaturação do colágeno, em temperatura acima de 40°C, ocorre o rompimento da estrutura helicoidal. Então, pode ser observado dois componentes α denominados $\alpha 1$ e $\alpha 2$, dois β (beta) e outro componente γ (gama) com peso molecular similar ao da molécula de tropocolágeno (300 kDa) (BALIAN; BOWES, 1977).

As moléculas de tropocolágeno unem-se em arranjos de conformação torça por meio de associações lado a lado (1 e 2 – Figura 2), estabilizadas por interações hidrofóbicas e eletrostáticas, com outras moléculas de tropocolágeno, formando as fibrilas (3 - Figura 2). Portanto, as fibrilas de colágeno são compostas de agregados de moléculas de colágeno ao longo de um eixo paralelo, mas cujas extremidades são igualmente sobrepostas para produzir bandas de 60 a 70 nm (3- Figura 2). O conjunto de fibrilas formam as fibras de colágeno (4 - Figura 2), as quais se organizam em feixes (5- Figura 2) (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; RICARD-BLUM, 2011; SILVA; PENNA, 2012).

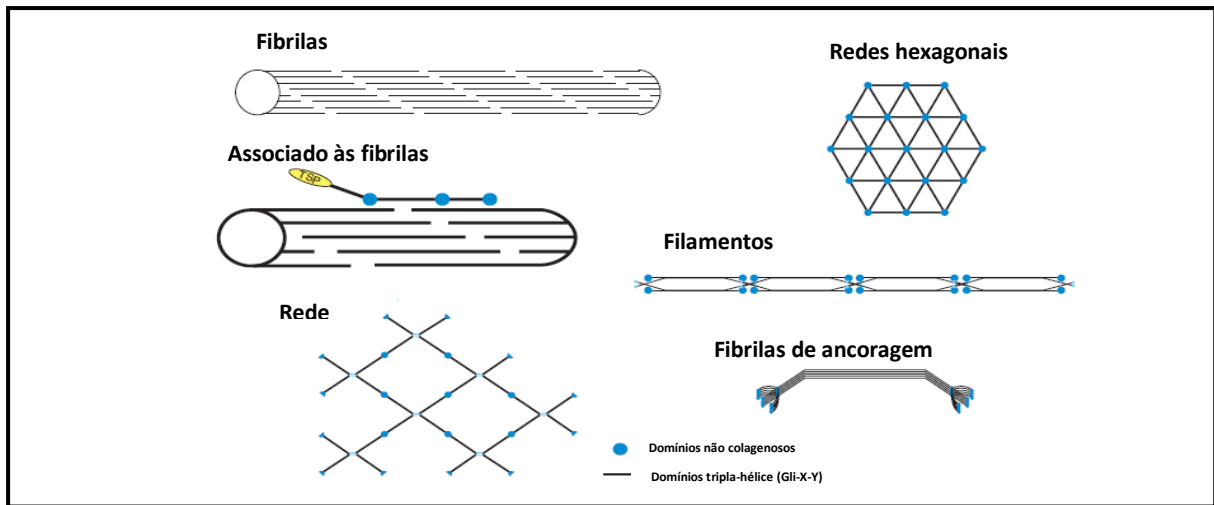
Figura 2. Formação de fibrilas de colágeno



Fonte: Adaptado de JUNQUEIRA; CARNEIRO; KELLEY (1989), apud DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA (2010).

De acordo com Ricard-Blum (2011) as proteínas colagenosas formam agregados supramoleculares (fibrilas, filamentos ou redes), sozinhas ou em conjunto com outras matrizes extracelulares (Figura 3).

Figura 3. Agregados supramoleculares formados por colágeno



Fonte: RICARD-BLUM (2011).

Baseado em sua estrutura e organização supramolecular, o colágeno pode ser classificado nos seguintes grupos: colágenos formadores de fibrilas (colágenos tipos I, II, III, V, XI, XXIV e XXVII); colágeno de membrana basal (colágeno tipo IV); colágeno microfibrilar (colágeno tipo VI); colágeno de ancoragem (colágeno tipo VII); colágeno de rede (colágenos tipos IV, VIII e X); colágenos associados a fibrilas (colágenos tipos IX, XII, XIV, XIX, XX, XXI); fibrilas de ancoragem (colágeno tipo VII); colágeno de transmembrana (colágenos tipos XIII e XVII) e outros colágenos com funções únicas (Tabela 1) (GELSE; POSCHL; AIGNER, 2003; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Tabela 1. Tipos de colágenos, composição molecular e distribuição nos tecidos

Tipo	Composição Molecular	Distribuição nos tecidos
Colágenos formadores de fibrilas		
I	$[\alpha_1(I)]_2\alpha_2(I)$	Ossos, pele, tendões, ligamentos e córnea
II	$[\alpha_1(II)]_3$	Cartilagem e corpo vítreo
III	$\alpha_1(III)_3$	Pele, parede de vasos, fibras reticulares da maioria dos tecidos (pulmões, fígado, baço, etc.) associado ao tipo I
V	$[\alpha_1(V)]_2\alpha_2(V), [\alpha_1(V)]_3$	Pulmão, córnea, ossos, membranas fetais, associado ao tipo I
XI	$\alpha_1(XI)\alpha_2(XI)\alpha_3(XI)$	Cartilagem, corpo vítreo
Colágeno de membrana basal		
IV	$[\alpha_1(IV)]_2\alpha_2(IV), \alpha_3(IV), \alpha_4(IV), \alpha_5(IV)$	Membranas basais
Colágeno microfibrilar		
VI	$\alpha_1(VI), \alpha_2(VI), \alpha_3(VI), \alpha_4(VI), \alpha_5(VI), \alpha_6(VI)$	Pele, cartilagem, placenta, pulmão, parede do vaso e disco intervertebral, cartilagem
Colágeno de ancoragem		
VII	$[\alpha_1(VII)]_3$	Pele, junções dermo-epidérmica, mucosa oral, útero
Colágeno de rede		
VIII	$[\alpha_1(VIII)]_2, \alpha_2(VIII)$	Células endoteliais, córnea
X	$[\alpha_1(X)]_3$	Cartilagem hipertrófica
Colágenos associados a fibrilas		
IX	$\alpha_1(IX), \alpha_2(IX), \alpha_3(IX)$	Cartilagem, humor vítreo e córnea, associado ao tipo II
XII	$[\alpha_1(XII)]_3$	Pericôndrio, ligamentos e tendões, associado ao tipo I
XIV	$[\alpha_1(XIV)]_3$	Derme, tendão, parede de vasos, placenta, pulmão e fígado
XIX	$[\alpha_1(XIX)]_3$	Sarcoma das células embrionárias
XX	$[\alpha_1(XX)]_3$	Epitélio da córnea, pele embrionárias, cartilagem esternal, tendão, associado ao tipo I
XXI	$[\alpha_1(XXI)]_3$	Parede de vaso sanguíneo, associado ao tipo I
Colágeno de transmembrana		
XIII	$[\alpha_1(XIII)]_3$	Epiderme, folículo piloso, endomísio, intestino, condrocito, pulmões, fígado
XVII	$[\alpha_1(XVII)]_3$	Pele e epitélio do intestino
Colágeno multiplexo		
XV	$[\alpha_1(XV)]_3$	Membrana basal, células do músculo liso, pâncreas, rim
XVI	$[\alpha_1(XVI)]_3$	Bolsa amniótica, queratinócitos, associado ao tipo II na cartilagem hialina e com microfibrilas na pele
XVIII	$[\alpha_1(XVIII)]_3$	Pulmões e fígado

Fonte: GELSE; POSCHL; AIGNER, 2003; RICARD-BLUM, 2011, apud SIMÕES, 2013.

O grupo de colágeno mais abundante e responsável por cerca de 90% do colágeno total é representado pelos colágenos formadores de fibrilas, os quais desempenham papel estrutural e contribuem com as propriedades mecânicas dos tecidos (BIRK et al., 1988; KADLER, 1995; GELSE; POSCHL; AIGNER, 2003; RICARD-BLUM, 2000, 2011).

As fibrilas de colágeno tipo I são as mais abundantes e amplamente distribuídas no organismo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). O colágeno tipo I é o constituinte da pele (80% da matéria seca da pele adulta), tendões (90% da matéria seca), ligamentos e ossos (90% da matéria seca) (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2001). É formado por fibras espessas com até 20 μm de diâmetro que se associam em feixes e por essa característica o colágeno tipo I confere boa resistência mecânica, rigidez e elasticidade aos tecidos (RICARD-BLUM, 2011). O colágeno tipo I é formado por duas cadeias idênticas $\alpha_1(I)$ e uma cadeia $\alpha_2(I)$, portanto é um heterotrímero (GELSE; POSCHL; AIGNER, 2003).

O colágeno tipo III é a segunda forma fibrosa mais abundante da proteína no músculo esquelético e é amplamente distribuído em tecidos que contém o colágeno tipo I, com exceção dos ossos (VON DER MARK, 1981; BAILEY; LIGHT, 1989). Em tecidos elásticos, esse tipo de colágeno é abundante e tem sido detectado também na parede das artérias, pele e no útero. É um componente importante de fibras do interstício, tecidos dos pulmões, fígado, derme, baço e veias (VON DER MARK, 1981). O colágeno tipo III é composto por três cadeias alfa (α -) idênticas, $\alpha 1(\text{III})$, e contém resíduos de cisteína localizados no C-terminal da tripla hélice, que forma ligações intra e intermoleculares de dissulfeto. Este forma fibras que são menores (50 nm) do que aquelas produzidas por colágeno tipo I (BAILEY; LIGHT, 1989).

Os demais tipos de colágeno estão presentes em proporções menores quando comparado aos colágenos tipo I e tipo III e em tecidos específicos do organismo tais como as membranas basais, córnea, músculo do coração, pulmões, mucosa intestinal, entre outros, conforme observado na Tabela 1 (SCHRIEBER; GAREIS, 2007; KARIM; BHAT, 2009).

3.9.1 Extração de Colágeno

Antes de iniciar o processo de extração do colágeno, um pré-tratamento é realizado à matéria-prima, a fim de remover as substâncias não-colagenosas e melhorar o rendimento durante o processo de extração. Os processos mais comumente utilizados são aqueles baseados na solubilidade do colágeno em soluções salinas (SIMÕES et al., 2014; SCHMIDT et al., 2016).

Uma vez realizado o pré-tratamento à matéria-prima, dá-se início ao processo de extração do colágeno, o qual geralmente é realizado pela solubilização do colágeno em ácido orgânico para obtenção da fração denominada de “colágeno solúvel em ácido”. Esse produto possui a estrutura nativa do colágeno e, portanto, para degradação das ligações cruzadas covalentes nas regiões telopeptídicas faz-se necessário utilizar uma enzima, sendo a pepsina a mais comumente utilizada. Assim, é obtida a fração “colágeno solúvel em pepsina”. O ácido acético é o ácido mais comumente utilizado no processo de extração, pois promove o intumescimento do tecido e a dissolução das fibras colagenosas, o que permite uma melhor ação posterior da pepsina. Desta forma, o método mais recomendado para a extração de colágeno é a utilização do ácido acético e posterior hidrólise com pepsina (BALIAN; BOWES, 1977; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011; SIMÕES et al., 2014).

De acordo com Wang et al. (2008), o ácido acético é o ácido mais comumente utilizado para a extração do colágeno devido a sua alta capacidade de extração. Ou seja, os ácidos orgânicos são capazes de solubilizar colágenos que possuem ligações cruzadas e também de hidrolisar algumas destas ligações cruzadas, promovendo uma solubilidade mais elevada do colágeno durante o processo de extração (LIU et al., 2015). Diversos procedimentos utilizaram o ácido acético para extração do colágeno ácido solúvel de subprodutos de pescados e aves, como da pele de carpa capim (ZHANG et al., 2007; LIU et al., 2015), pele de merluza do Alaska (YAN et al., 2008), pele de tilápia do Nilo (ZENG et al., 2009), pele e bexiga natatória de robalo (SINTHUSAMRAN; BENJAKUL; KISHIMURA, 2013), pés de galinha (CHENG et al., 2009), pés de frango (LIU; LIN; CHEN, 2001; ZHOU et al., 2016) e pele de emu (NAGAI et al., 2015). A concentração do ácido acético na extração de colágeno tem influência muito significativa, uma vez que a mudança na sua concentração pode alterar o valor do pH da solução, tornando um meio desfavorável para a ação da enzima (pepsina) (PIPER; FENTON, 1965; SCHLAMOWITZ; PETERSON, 1959; CHENG et al., 2009).

Nalinanon et al. (2007) avaliaram a extração e caracterização do colágeno de pele do peixe marinho “bigeye snapper” (*Priacanthus tayenus*) utilizando ácido acético e pepsina no processo e observaram que a eficiência na extração foi aumentada com a utilização de pepsina após o processo de acidificação do meio de extração. Ainda afirmaram que as ligações cruzadas covalentes nas regiões dos telopeptídeos, bem como as ligações cruzadas intermoleculares das moléculas de colágeno não foram facilmente solubilizadas pela extração apenas com ácido. Logo, estas ligações foram clivadas quando foi utilizada a pepsina no processo. E sua adição promoveu a quebra das ligações sem danificar a integridade da tripla hélice de colágeno.

Diversos estudos utilizando outras matérias-primas como fonte de colágeno comprovaram que a sua extração em meio ácido seguida da utilização de pepsina aumenta o rendimento final. Conforme foi observado por Zhang, Liu e Li (2009) ao avaliarem a extração de colágeno de pele de bagre (*Mystus macropterus*) utilizando ácido acético 0,5 ml L⁻¹ seguido de hidrólise com 1,5% de pepsina e observaram um rendimento de extração de 28% enquanto que, a extração utilizando apenas ácido acético 0,5 ml L⁻¹ proporcionou um rendimento de 16,8%. Zhou et al. (2016) investigaram e avaliaram o rendimento na extração de colágeno da pele do pé do frango utilizando em um tratamento apenas 0,5 mol L⁻¹ de ácido acético para extração e no outro 0,5 mol L⁻¹ de ácido acético combinado com 0,1% de pepsina e concluíram que quando a pepsina foi utilizada em combinação com ácido houve um

aumento de cerca de 3,4 vezes no teor de colágeno. Muralidharan et al. (2013) também estudaram métodos de extração de colágeno a partir de pele de peixe-porco (*Odonus Níger*) e observaram que a utilização de ácido acético e pepsina proporcionou a obtenção de um concentrado de colágeno contendo 70,94 g de colágeno por 100 g de amostra, enquanto que quando foi realizada a extração utilizando apenas ácido acético o produto final apresentou um menor conteúdo de colágeno (46,48 g de colágeno por 100 g de amostra).

Wang et al. (2014) também isolaram colágeno a partir da pele de peixe esturjão Japonês (*Acipenser screnckii*) e observaram que a utilização de 0,5 M de ácido acético proporcionou um rendimento de 37,42%, enquanto que a utilização de 0,5 M de ácido acético combinado com 0,1% de pepsina rendeu 52,80%. Relataram ainda que o isolado de colágeno obtido com ácido acético e pepsina mantiveram a estrutura de tripla hélice intacta. E pela espectroscopia de transformação de Fourier (FTIR) nesse isolado foi observado maior quantidade de ligações de hidrogênio, enquanto que àquele obtido apenas com a utilização de ácido proporcionou mais ligações cruzadas intermoleculares. Portanto, a hidrólise com pepsina não afetou a estrutura secundária do colágeno, especialmente a estrutura de tripla hélice (KITTIHATTANABAWON et al., 2010).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta de Amostras

As amostras de peito de peru, asa, coxa, sobrecoxa, pescoço, pele e barbela foram obtidas em uma planta comercial localizada na região sul do Brasil. As aves foram abatidas de acordo com as práticas padrões da indústria e aprovadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O procedimento de abate consistiu de pendura, atordoamento elétrico, sangria, escalda, depena, evisceração, resfriamento da carcaça no túnel de resfriamento por 6 h a 6°C e desossa.

Em seguida, os peitos de peru foram coletados, refrigerados a 4°C por 24 h e realizada a classificação como PSE (n=24) e Normal (n=30) por meio da medida de cor (L*). Os peitos de peru (*pectoralis major*) de linhagem Nicholas 700, 140 dias, peso médio de 18± 2 kg foram utilizados como amostras para esta investigação no experimento I.

As asas, coxas, sobrecoxas, peitos e pescoços (n=6) foram coletados após a desossa, refrigerados a 4 °C e conduzidos ao laboratório do Departamento de Ciência e Tecnologia de

Alimentos da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Em seguida, as amostras foram separadas, embaladas em sacos plásticos escuros e amostras para as medidas de oxidação lipídica foram congeladas à -18°C . As demais foram armazenadas a -80°C até o momento da realização das análises do experimento II. Para a realização das análises, as peles dos cortes comerciais foram removidas e apenas a carne foi utilizada para a caracterização da composição química, física e estabilidade oxidativa.

As barbelas de perus machos (2 kg) e fêmeas (2 kg) foram obtidas manualmente após o processo de remoção da cabeça do animal. Após a retirada da cabeça e antes do envio destas à graxaria, foram retiradas as amostras de barbelas machos e fêmeas, refrigeradas durante o transporte do abatedouro até o laboratório. As amostras foram exaustivamente lavadas com água destilada e armazenadas a -18°C em sacos plásticos escuros até o momento da realização do experimento III (extração do colágeno).

4.2 Experimento I: Caracterização físico-química e histológica de carnes de peru PSE (*Pale, Soft, Exudative*) em planta de processamento comercial brasileira (*Further physico-chemical and histological characterization of PSE (pale, soft, exudative) turkey meat in a Brazilian commercial processing plant*)

4.2.1 Classificação dos peitos de peru PSE e Normal

Na superfície posterior dos músculos dos peitos de peru, sem pele, foram medidos os valores de L^* (luminosidade) utilizando o colorímetro Minolta CR400 (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan). Os valores de L^* foram medidos em três diferentes pontos da amostra (foi realizada a duplicata em cada um dos pontos, totalizando seis valores de L^* por peito analisado), sendo na extremidade proximal do músculo, extremidade distal do músculo e no meio entre as extremidades distal e proximal. Os peitos foram classificados como PSE, quando $L^* \geq 53$ e Normal quando $L^* < 53$, conforme descrito por Carvalho et al. (2014) e Owens et al. (2000).

4.2.2 Caracterização de peitos de peru PSE e Normal

Os peitos de peru classificados como PSE e Normal foram utilizados para avaliação das características físicas, químicas e histológicas. Para análise histológica dos peitos de peru, os mesmos foram cortados e fixados em Bouin logo após a classificação. Para a análise do

índice de fragmentação miofibrilar (IFM), foram utilizadas amostras classificadas e congeladas a -18 °C.

4.2.2.1 Medida de pH

O pH foi medido em um pHmetro de contato (Testo 205, Testo AG, Lenzkirch, Germany) em triplicata logo após a classificação das amostras em PSE e Normal, conforme descrito por Carvalho et al. (2014).

4.2.2.2 Capacidade de retenção de água (CRA)

A CRA dos peitos de peru classificados como PSE e Normal foi determinada conforme o procedimento descrito por Hamm (1960). Nesta determinação, as amostras foram coletadas a partir do lado cranial dos peitos classificados e cortadas em cubos de 2,0 g ($\pm 0,10$). As amostras foram colocadas entre dois papéis de filtro dispostos entre duas placas de acrílico e em seguida, um peso de 10 kg foi colocado sob as placas por 5 min. As amostras foram retiradas e novamente pesadas. A CRA foi determinada aplicando a seguinte relação: $100 - [(W_i - W_f / W_i) \times 100]$, onde W_i e W_f foram os pesos iniciais e finais das amostras, respectivamente. Os resultados de CRA foram expressos em percentagem.

4.2.2.3 Perda por cozimento (PPC)

A PPC dos peitos de peru classificados como PSE e Normal foi medida de acordo com Honikel (1998). As amostras foram pesadas (75 ± 5 g) antes e 15 min após o cozimento, cujo tempo foi necessário para a temperatura interna atingir 75 °C. As amostras foram embaladas em sacos plásticos vedados foram cozidas em banho-maria. Os resultados foram expressos em percentagem de perda por cozimento.

4.2.2.4 Textura

A análise de textura dos peitos de peru classificados como PSE e Normal foi realizada, em sextuplicata, pela medida da força de cisalhamento (FC) conforme descrito por Honikel (1998) e Droval et al. (2012). Inicialmente, as amostras foram embaladas em sacos plásticos e cozidas em banho-maria até a temperatura interna atingir 75 °C. Após o resfriamento e atingir

a temperatura ambiente, as amostras foram cortadas em tamanhos de 1 x 1 x 2 cm³ (altura, largura, comprimento) e medido a textura (Texturômetro TATX-2i). Os resultados foram expressos em Newton (N).

4.2.2.5 Índice de fragmentação miofibrilar (IFM)

O IFM dos peitos de peru classificados como PSE e Normal foi determinado conforme descrito por Culler et al. (1978). Assim, 4,0 g de amostra livre de gordura externa e tecido conectivo visível foram homogeneizadas duas vezes em Ultra turrax a 13.500 rpm por 30 segundos em 20 mL de tampão MFI a 2°C (100 mM KCl, 20 mM fosfato de potássio pH 7,0, 1 mM EDTA, 1 mM MgCl₂ e 1 mM NaN₃). O homogenato foi centrifugado a 10.000 x g por 15 min a 2 °C. O sobrenadante foi coletado, conservado sob refrigeração e reservado (S₁). O sedimento foi resuspenso em 20 mL de tampão MFI (2 °C), homogeneizado e novamente centrifugado nas mesmas condições anterior. O sobrenadante obtido (S₂) foi misturado ao S₁ e o sedimento foi suspenso em 10 mL de tampão MFI e agitado com vórtex para homogeneização. O tecido conectivo foi removido com auxílio de papel filtro e adicionado 10 mL de tampão MFI para lavagem do tubo da centrífuga e para auxiliar na filtração. O sobrenadante resultante foi misturado ao S₁ e S₂ e então obtida a solução de miofibrilas, a qual foi utilizada para quantificação do teor de proteínas e IFM. O teor de proteínas miofibrilares foi quantificado conforme o método de biureto (GORNALL, BARDWILL e DAVID, 1949), utilizando uma curva padrão de albumina sérica bovina. O teor de proteína solúvel foi estimado para estabelecer o volume de solução de miofibrilas necessário para obter uma concentração de 0,5 mg de proteína por mL e medir o IFM.

O volume apropriado da solução de miofibrilas foi completado com tampão MFI e 4 mL de reagente biureto para totalizar um volume final de 8 mL. A mistura foi homogeneizada por agitação em vórtex. Em seguida, foi realizada a leitura no espectrofotômetro a 540 nm. O IFM foi expresso como a leitura em absorbância multiplicada por 200.

4.2.2.6 Desnaturação proteica

A medida da desnaturação proteica dos peitos de peru classificados como PSE e Normal foi realizada por meio da determinação do grau de desnaturação das proteínas solúveis e de acordo com a metodologia descrita por Swatland (1995). Neste procedimento, foram pesadas 5,0 g de amostra e homogeneizadas com 15 mL de água destilada. O

homogenato foi centrifugado a 10000 x g por 10 minutos (Hitachi, model CR 21). O sobrenadante foi filtrado com papel de filtro e 1,0 mL foi transferido para um tubo com tampa rosqueável contendo 5,0 mL de tampão citrato-fosfato 0,2M e pH 4,6. Um branco foi preparado contendo 1,0 mL do filtrado e 5,0 mL de água destilada. Os tubos foram colocados em banho termostatzado a 20 ± 2 ° C por 30 min. A leitura da transmitância foi realizada a 600 nm (Espectrofotômetro GBC, Cintra 20) contra o branco. A desnaturação proteica foi expressa pela diferença entre a leitura de transmitância do branco e amostra.

4.2.2.7 Avaliação histológica por microscopia óptica

Para análise histológica dos peitos de peru classificados como PSE e Normal, os mesmos foram cortados (aproximadamente 1 cm de comprimento x 1 cm de largura x 3 mm de espessura) e fixados em solução de Bouin por 24 h. As amostras foram desidratadas em uma série de etanol com concentrações crescentes, diafanizadas em xilol, incluídas em parafina e cortadas em micrótomo com espessura de 5µm. Os cortes foram submetidos à técnica de coloração Hematoxilina e Eosina (HE) e avaliados quanto à morfologia geral do tecido e o grau de encolhimento das células, por meio da medida do menor diâmetro das células conforme Dubowitz e Brooke (1973), utilizando o programa MOTIC Image Plus 2.0 ML® (MOTIC Image Plus Motic Instruments Richmond, Canada) para obtenção das imagens e diâmetros das células. Em cada imagem foi medido aleatoriamente o diâmetro de 20 células pelo uso de uma objetiva de 40x, totalizando 200 células por grupo de peitos. As imagens histológicas registradas e os diâmetros medidos (µm) foram comparados aplicando o teste *t-student*.

4.2.3 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software Statistica (STATSOFT, 2004). O teste t-student a 5% de significância foi usado para comparar os peitos de peru PSE e normal com relação às médias das medidas de cor (L^* , a^* , b^*), pH, CRA, PPC, DP, IFM, FC e diâmetro das fibras. O coeficiente de correlação de Pearson foi calculado para verificar as correlações entre as medidas de L^* , pH, CRA, PPC, DP, IFM e FC em peitos de peru PSE e Normal.

4.3 Experimento II: Caracterização química, física e estabilidade oxidativa dos cortes comerciais de peru

4.3.1 Medida de pH e cor

A medida direta do pH, em quintuplicata, foi realizada com pHmetro de contato (Testo 205, Testo AG, Lenzkirch, Germany). Sendo que as peles foram trituradas manualmente, pesadas 10 g e diluída em 100 mL de água destilada, mantida sob agitação e medido o pH.

A medida de cor (L^* , a^* , b^*) foi realizada diretamente em 11 pontos diferentes da amostra utilizando o colorímetro Minolta CR400 (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan). Sendo que para os cortes de pescoço foi necessário realizar a desossa.

4.3.2 Determinação da composição química

A composição química dos peitos, coxas, sobrecoxas, asas, pescoços e peles foi determinada de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2012). As análises foram realizadas em triplicata. Para a análise de lípideos, as amostras foram previamente submetidas à hidrólise ácida. O processo de hidrólise ácida foi realizado inicialmente pela pesagem de 5 g de amostra, a qual foi transferida para um erlenmeyer. Foi adicionado 50 mL de água fervente e 60 mL de ácido clorídrico 8 mol L^{-1} . O erlenmeyer foi colocado sob uma chapa de aquecimento (em agitação constante) e o conteúdo foi mantido em ebulição por 15 min. Após resfriar até à temperatura ambiente, o material foi filtrado com papel de filtro. O erlenmeyer e o papel de filtro foram lavados com água destilada até não haver mais evidências de cloretos, utilizando aproximadamente 500 mL de água destilada ou até que o líquido obtido se tornasse límpido. O papel de filtro foi seco em estufa a 65°C por aproximadamente 1 h. Com o papel de filtro seco foi feito um cartucho, o qual foi usado para extração dos lípideos no aparelho de Soxhlet. O teor de lipídios foi determinado pela diferença de pesagem dos balões antes e após a extração, multiplicado por 100.

4.3.3 Determinação do perfil de ácidos graxos

Para determinação do perfil de ácidos graxos os lípideos foram extraídos conforme descrito por Bligh e Dyer (1959). Em seguida, a hidrólise e transesterificação dos ácidos graxos foram realizadas conforme o método 5509 da ISO (1978). A separação dos ésteres

metílicos de ácidos graxos foi realizada utilizando o cromatógrafo gasoso (Shimadzu modelo 17A Gas Chromatograph), equipado com detector de ionização de chamas e coluna capilar (100 m x 0,25 mm) com 0,25 μm de cianopropilpolisiloxano CP SII 88. A rampa de temperatura da coluna foi programada para: 65°C por 15 min; 10°C min^{-1} até 165°C e mantido por 2 min; 4°C $\cdot \text{min}^{-1}$ até 185°C e mantido por 8 min; 4°C $\cdot \text{min}^{-1}$ até 235°C e mantido por 5 min. O detector e o injetor foram mantidos a 260°C. Os fluxos de gases foram de 1,2 mL $\cdot \text{min}^{-1}$ para o gás de arraste (H_2), 30 mL $\cdot \text{min}^{-1}$ para o gás auxiliar (N_2) e 300 mL $\cdot \text{min}^{-1}$ para os gases da chama (H_2 e ar sintético). Os padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos foram aplicados e comparados com as amostras para identificação dos ácidos graxos. Após a corrida, as áreas dos picos dos ésteres metílicos de ácidos graxos foram determinadas com o integrador. Os resultados foram expressos como percentagens relativas dos ácidos graxos identificados.

4.3.4 Medida da estabilidade oxidativa

A medida da estabilidade oxidativa dos cortes comerciais de peru (asa, coxa, peito, pele, pescoço e sobrecoxa) foi determinada pelo índice de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) conforme a metodologia descrita por Tarladgis, Watts e Younathan (1960) e modificada por Crackel et al. (1988). Foram utilizados 10 g de amostras descongeladas por 12 h a 4°C. Às amostras, foi adicionado 98 mL de água destilada, 2,5 mL de ácido clorídrico 4 mol L^{-1} e 5 gotas de antiespumante (8 partes de Span 80 e 1,3 partes de Tween 20) e algumas pérolas de vidro. Em seguida, a solução foi destilada por cerca de 10 min e coletado aproximadamente 50 mL do destilado. O destilado foi homogeneizado e uma alíquota de 5 mL foi transferida para um tubo de ensaio com tampa rosqueável e adicionado 5 mL de TBA (ácido tiobarbitúrico) 0,02 mol L^{-1} . Os tubos foram colocados em banho-maria a 85°C por 35 min. Resfriados a temperatura ambiente e a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 530 nm. A curva foi construída utilizando o TEP (1,1,3,3 Tetraetoxipropano) como padrão. O resultado foi expresso em mg de TBARS/ kg de amostra.

4.3.5 Análise estatística

Os resultados das médias da composição química, cor, pH, medida de oxidação lipídica e perfil de ácidos graxos foram comparados entre os diferentes cortes de perus aplicando o teste de *Tukey* ($p < 0,05$) após a análise de variância (ANOVA), utilizando o

software Statistica (STATSOFT, 2004). O coeficiente de correlação de Pearson foi calculado para verificar as correlações entre os ácidos graxos poliinsaturados de maior proporção e a estabilidade oxidativa.

4.4 Experimento III: Extração e obtenção de isolado de colágeno (IC) de barbelas de peru

4.4.1 Caracterização química e determinação do conteúdo de colágeno

A partir de 2 kg de barbelas de perus machos e fêmeas abatidos com 140 dias e amostradas aleatoriamente foram caracterizadas quanto à composição química, conforme descrito na AOAC (2012). O conteúdo de colágeno foi determinado pelo teor do aminoácido hidroxiprolina, conforme a metodologia descrita por Woessner (1961) cujo resultado foi multiplicado por 8,0 conforme Kolar (1990). Os resultados foram expressos em g de colágeno em 100 g de amostra. A composição química e o conteúdo de colágeno dos perus machos e fêmeas foram comparados entre si aplicando o teste de *Tukey* ao nível de 5% de significância.

4.4.2 Preparo das barbelas de peru para a extração de colágeno

Após descongelamento das barbelas de peru por 12 h a 4°C, estas foram estendidas e cortadas manualmente em pedaços uniformes com 1,0 cm de comprimento e 1,0 cm de largura. As barbelas foram previamente tratadas conforme procedimento descrito por Shimokomaki, Duance e Bailey (1980). De acordo com o procedimento, os pedaços de barbelas foram imersos em água destilada na proporção de 1:10 (m/v) e agitados em incubadora refrigerada (TE 421, Tecnal, Brasil) a 4°C por 48 h, com troca diária da água destilada. Os compostos não fibrilares foram removidos pela substituição da água destilada por solução de Tris-base 0,05 mol L⁻¹ e NaCl 1,0 mol⁻¹ (pH 7,5) na proporção de 1:10 (m/v) sob agitação na incubadora refrigerada a 4°C por 48 h, com troca diária da solução. Após este período a solução foi removida e a barbela utilizada para extração e obtenção do IC.

4.4.3 Extração e obtenção de isolado de colágeno (IC) de barbelas de peru

Para avaliar os efeitos do pH da solução do ácido acético adicionada (X_1) e percentagem de pepsina (X_2) na extração e obtenção do IC foi utilizado o planejamento

fatorial completo (2^2) com três repetições no ponto central, totalizando 7 ensaios que foram realizados aleatoriamente (Tabela 2).

O tempo de ação do ácido acético e da pepsina para extração e obtenção do IC de barbelas de perus machos, foi estabelecido conforme os ensaios preliminares (Ensaio I e II). No ensaio I, as barbelas limpas e pré-preparadas foram utilizadas para extração e obtenção do IC, conforme descrito por Shimokomaki, Duance e Bailey (1980). A extração foi realizada com ácido acético na proporção de 1:10 (m/v) e agitados por 0 h, 12 h, 24 h e 36 h e mantidos constantes o pH igual a 2,5 da solução de ácido acético ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido acético). A mistura foi homogeneizada em turrax por 10 min a 16.000 rpm e adicionada a percentagem de pepsina de 0,15% em relação ao homogenato, a qual foi mantida constante (para todos os tratamentos) e sob agitação (TE 421, Tecnal, Brasil) por 12 h a 4°C . Após a hidrólise com a pepsina, o pH do material foi ajustado para 7,5 utilizando solução $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH ou $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl e centrifugado a $10.000 \times g$ por 30 min a 4°C . O precipitado (P_1) foi descartado e o sobrenadante (S_1) contendo o material colagenoso foi submetido à precipitação salina com solução de $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl e novamente centrifugado a $10.000 \times g$ por 30 min a 4°C . O sobrenadante (S_2) foi descartado e o precipitado (P_2) foi dialisado, utilizando tubos para diálise com 32 mm (Sigma Aldrich Co., St. Louis, EUA), na solução de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido acético por 72 h a 4°C , com troca diária da solução. Em seguida o precipitado (P_2) foi liofilizado (Alpha Christ, Osterode AM Harz, Alemanha) e denominado de isolado de colágeno (IC_a) que foi utilizado para determinação do conteúdo de colágeno. Assim, nesse ensaio foi definido que o tempo de ação do ácido acético não influenciou na extração e obtenção de IC.

No ensaio II, foi avaliado o melhor tempo de ação da pepsina para extração e obtenção do IC de barbelas de peru. A extração foi realizada conforme descrito por Shimokomaki, Duance e Bailey (1980). Neste ensaio a extração foi realizada utilizando a proporção de 1:10 (m/v) de barbelas limpas e pré-preparadas e solução de ácido acético ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido acético) com pH igual a 2,5 e sem agitação. A mistura foi homogeneizada em turrax por 10 min a $16.000 \times g$ e adicionada a pepsina de 0,15% por 0 h, 12 h, 24 h e 36 h de hidrólise a 4°C . Após o tempo de hidrólise o procedimento foi similar ao ensaio I. O isolado de colágeno (IC_p) obtido foi utilizado para determinar o conteúdo de colágeno. Assim, foi estabelecido que o tempo de ação da pepsina foi de 12 h de agitação para extração e obtenção de IC.

Após estabelecer o tempo de ação do ácido acético e da pepsina para extração e obtenção de IC de barbelas de peru foi avaliado os efeitos do pH do ácido acético (x_1) e percentagem de pepsina (x_2) na extração e obtenção do IC foi utilizado o planejamento

fatorial completo (2^2) com três repetições no ponto central, totalizando 7 ensaios que foram realizados aleatoriamente (Tabela 2).

Tabela 2. Planejamento fatorial completo (2^2) com as variáveis independentes da extração para obtenção do isolado de colágeno (IC)

Ensaio	$X_1 (x_1)$	$X_2 (x_2)$
	pH do ácido acético	% de pepsina
1	2,0 (-1)	0,05 (-1)
2	3,0 (+1)	0,05 (-1)
3	2,0 (-1)	0,45 (+1)
4	3,0 (+1)	0,45 (+1)
5 (C)	2,5 (0)	0,25 (0)
6 (C)	2,5 (0)	0,25 (0)
7 (C)	2,5 (0)	0,25 (0)

C = ponto central

Assim, as barbelas de perus limpas e pré-preparadas foram submetidas ao processo de extração (SHIMOKOMAKI; DUANCE; BAILEY, 1980) com ácido acético na proporção de 1:10 (m/v), cuja variável foi o pH ou seja X_1 (2,0; 2,5 e 3,0) e a mistura foi imediatamente homogeneizada em turrax por 10 min a 16.000 rpm. Em seguida, a variável X_2 , ou seja, percentagem de pepsina (0,05%; 0,25% e 0,45%) em relação ao homogenato foi adicionada e a mistura mantida sob agitação (TE 421, Tecnal, Brasil) por 12 h a 4°C. Após a hidrólise com pepsina, o pH do material foi ajustado para 7,5 utilizando 1,0 mol L⁻¹ de NaOH ou 1,0 mol L⁻¹ de HCl e centrifugado a 10.000 x g por 30 min a 4°C. O precipitado (P_1) foi descartado e o sobrenadante (S_1) contendo o material colagenoso foi submetido à precipitação salina com 3,0 mol L⁻¹ de NaCl e novamente centrifugado a 10.000 x g por 30 min a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi dialisado em solução de ácido acético 0,5 mol L⁻¹ por 72 h a 4°C, com troca diária da solução. Em seguida o precipitado foi liofilizado (Alpha Christ, Osterode AM Harz, Alemanha) e denominado de isolado de colágeno (IC) que foi utilizado para determinação da função resposta Y_1 (g de colágeno em 100 g de IC). A equação do modelo proposto foi: $Y_1 = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + e$ (Equação 1), onde: Y_1 = função-resposta; x_1, x_2 = variáveis codificadas; β = coeficientes estimados para cada termo; e = resíduo.

A partir da determinação da função-resposta (Y_1) foi realizada a análise de regressão, análise de variância (ANOVA), construção dos gráficos de superfície de resposta e de desejabilidade utilizando o programa STATISTICA 7.0 (STATSOFT, 2004).

4.4.4 Validação do modelo

A validação do modelo proposto foi realizada em duplicata a partir da melhor condição para obter o IC de barbelas de peru com maior conteúdo de colágeno. Os resultados foram comparados com os estimados pelo modelo aplicando o teste t de *Student* ao nível de 5%.

4.4.5 Rendimento e grau de purificação do IC

O rendimento e o grau de purificação do IC de barbelas de peru foram determinados conforme descrito por Simões et.al. (2014). Sendo que a % de rendimento foi calculada pela relação entre a massa (g) de IC obtida e a massa (g) de barbela de peru utilizada multiplicado por 100. O grau de purificação foi calculado pela relação entre o conteúdo de colágeno do IC (g de colágeno em 100 g de IC) e da barbela de peru (g de colágeno em 100 g de barbela de peru).

4.4.6 Eletroforese

Após a validação do modelo foi obtido o IC de barbelas de peru e realizado a eletroforese utilizando dodecil sulfato de sódio em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). As amostras foram preparadas de acordo com Shimokomaki, Duance e Bailey (1980) e Tanaka e Shimokomaki (1996) com algumas modificações. Foram pesados 12 mg do IC e adicionado 1 mL de SDS 2%. Em seguida, foi adicionado 1 mL de tampão da amostra contendo 20% de glicerol; Tris-HCl 0,5 M pH 6,8; 20% de SDS a 10% e 5% de β -mercaptoetanol. Para o gel de concentração e separação foram utilizados 4% e 8% de poliacrilamida, respectivamente.

A amostra foi mantida a 60°C por 30 min em banho-maria, resfriada e 10 μ L foram aplicados no gel de poliacrilamida. Em paralelo a amostra foram aplicados 10 μ L de marcador de peso molecular (10 – 220 kDa) e 10 μ L de padrão de colágeno Tipo I de cauda de rato (diluído em tampão de amostra 1:1 v/v). As condições da eletroforese foram 100 V, 25 mA e 5 W por 2 h. Após a corrida, os géis foram corados em Comassie Brilhante G-250 (0,01 g) dissolvido em água destilada, metanol e ácido acético na proporção de 5:4:1 (v/v/v). Em seguida foram descorados com solução de água, metanol e ácido acético na proporção de 5:4:1 (v/v/v). O perfil de eletroforese foi registrado utilizando o fotodocumentador (sistema KODAK Electrophoresis Documentation and Analysis System 290).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA- Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual 2016**. São Paulo: ABPA, 2016. 133 p.
- ANADÓN, H.L.S. **Biological, nutritional and processing factors affecting breast meat quality of broilers**. 171f. Thesis (Doctor of Philosophy in Animal and Poultry Sciences) – Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University, 2002.
- ANTONINI, E. Interrelationship between structure and function in hemoglobin and myoglobin. **Physiological Reviews**, v. 45, p. 123-141, 1965.
- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 19th ed. Maryland, United States: Association of Official Analytical Chemists, 2012.
- BAGGIO, S.R.; VICENTE, E.; BRAGAGNOLO, N. Cholesterol oxides, Cholesterol, Total Lipid, and Fatty Acid Composition in Turkey Meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5981-5986, 2002.
- BAILEY, A. J., LIGHT, N. D. **Connective tissue in meat and meat products**. Barking: Elsevier, 355 p., 1989.
- BALIAN, G., BOWES, J. H. The structure and properties of collagen. In WARD, A. G., COURTS, A. (eds.), **The science and technology of gelatin**. London: Academic Press, p.1–30, 1977.
- BARBUT, S. Colour measurements for evaluating the pale soft exudative (PSE) occurrence in turkey meat. **Food Research International**, v. 26, p. 39-43, 1993.
- BARBUT, S. Estimating the magnitude of the PSE problem in poultry. **Journal Muscle Foods**, v. 9, p. 35–49, 1998.
- BARBUT, S.; SOSNICKI, A. A.; LONERGAN, S. M.; KNAPP, T.; CIOBANU, D. C.; GATCLIFFE, L. J.; HUFF-LONERGAN, E.; WILSON, E. W.. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat, **Meat Science**, v.79, p.46-63, 2008.
- BARNETT, J.L.; CRONIN, G.M.; SCOTT, P.C. Behavioural responses of poultry during kosher slaughter and their implications for the birds' welfare. **Veterinary Record**, v. 160, p. 45-49, 2007.
- BARATTI, M.; AMMANNATI, M.; MAGNELLI, C.; MASSOLO, A.; DESSI-FULGHERI, F. Are large wattles related to particular MHC genotypes in the male pheasant? **Genetica**, v. 138, p. 657-665, 2010.
- BATE-SMITH, E.C.; BENDALL, J.R. Factors determining the time course of rigor mortis. **The Journal of Physiology**, v. 110, p. 47-65, 1949.

BEE, G., ANDERSON, A. L., LONERGAN, S. M., HUFF-LONERGAN, E. Rate and extent of pH decline affect proteolysis of cytoskeletal proteins and water-holding capacity in pork. **Meat Science**, v.76, p.359-365, 2007.

BENDALL, J.R. The shortening of rabbit muscles during rigor mortis: its relation to the breakdown of adenosine triphosphate and creatine phosphate and to muscular contraction. **The Journal of Physiology**, v. 114, p. 71-88, 1951.

BENDALL, J.R.; SWATLAND, H.J. A review of the relationship of pH with physical aspects of pork quality. **Meat Science**, v.24, p.85-126, 1988.

BERAQUET, N.J. Industrialização da carne de aves. **Revista Nacional da Carne**, v. 187, p.35-45, 1992.

BERNARDI, F. **Uso do processo de compostagem no aproveitamento de resíduos de incubatórios e outros de origem agroindustrial**. 2011. 78 p. Dissertação (Mestrado Engenharia Agrícola). Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel, 2011.

BIRK, D.E., FITCH, J.M., BABIARZ, J.P., LINSENMAYER, T.F. Collagen type I and type V are present in the same fibril in the avian corneal stroma. **The Journal of Cell Biology**, v.106, p.999–1008, 1988.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Journal of Biochemistry Physiology**, v. 31, p. 911-917, 1959.

BOLES, J.A.; PARRISH, F.C.; HUIATT, T.W.; ROBSON, R.M. Effect of porcine stress syndrome on the solubility and degradation of myofibrillar/cytoskeletal proteins. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 454-464, 1992.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (1998). Portaria 210, de 10 de Novembro de 1998. Regulamento técnico de inspeção tecnológica e higiênico sanitária de carne de aves. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, D.F, 26 nov. 1998. Seção 1, p.226.

BRATZLER, L.J. Determining the tenderness of meat by use of the Warner-Bratzler method. **Proceedings of the Second Annual Reciprocal Meat Conference**. National Livestock and Meat Board, Chicago, IL. AMSA, Savoy, IL, p. 117, 1949.

BRESSAN, M.C.; PERES, J.R.O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: UFLA/FAEPE, p.84, 88 – 93, 2001.

BRESSAN, M. C.; BERAQUET, N., J. Efeito de fatores pré-abate sobre a qualidade da carne de peito de frango. **Revista Ciênc. Agrotec. Lavras**, v.26, p.1049-1059, 2002.

BUCHHOLZ, R. Thermoregulatory role of the unfeathered head and neck in male wild turkeys. **The Auk**, v. 113, p. 310-318, 1996.

CARVALHO, R.H.; SOARES, A.L.; HONORATO, D.C.B.; GUARNIERI, P.D.; PEDROSO, M.R.; PAIÃO, F.G.; OBA, A.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. 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 and Technology*, v. 59, p. 883-888, 2014.

CARVALHO, R.H.; HONORATO, D.C.B.; GUARNIERI, P.D.; SOARES, A.L.; PEDROSO, M.R.; PAIÃO, F.G.; OBA, A.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Glycolysis Rate Delay in Turkey Breast Pectoralis major m. in a Commercial Air Chilling Processing Line and Meat Qualities. *International Journal of Poultry Science*, v. 14, p. 516-520, 2015.

CARVALHO, R.H.; HONORATO, D.C.B.; GUARNIERI, P.D.; SOARES, A.L.; SHIMOKOMAKI, M. Taxa de glicólise em Pectoralis major sob condições comerciais de processamento e sua influência na qualidade da carne de peru. *Avicultura Industrial*, v. 6, p. 50-52, 2016.

CARVALHO, R.H. **Bem-estar animal e qualidade de carne de aves**. 2016. 376 p. Tese (Doutorado Ciência Animal). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

CHEAH, K.S.; CHEAH, A.M. Mitochondrial calcium transport and calcium-activated phospholipase in porcine malignant hyperthermia. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amesterdam, v.634, p.70-84, 1981a.

CHEAH, K. S.; CHEAH, A. M. Skeletal muscle mitochondrial phospholipase A2 and the interaction of mitochondrial and sarcoplasmic reticulum in porcine malignant hyperthermia. *Biochimica Biophysica Acta*, Amesterdam, v.638, p.40-49, 1981b.

CHEAH, K.S.; CHEAH, A.M.; CROSLAND, A.R.; CASEY, J.C.; WEBB, A.J. Relationship between Ca²⁺ release, sarcoplasmic Ca²⁺, glycolysis end meat quality in halothane-sensitive and halothane-insensitive pigs. *Meat Science*, Barking, v.10, p.117-130, 1984.

CHEAH, K.S.; CHEAH, A.M.; KRAUSGRILL, D.I. Effect of dietary supplementation of vitamin E on pig meat quality. *Meat Science*, Barking, v.39, p.255-264, 1995.

CHENG, F.Y., HSU, F.W., CHANG, H.S., LIN, L.C., SAKATA, R. Effect of different acids on the extraction of pepsin-solubilised collagen containing melanin from silky fowl feet. *Food Chemistry*, v.113, p.563-567, 2009.

CRACKEL, R. L.; GRAY, J. I.; BOOREN, A. M.; BUCKELY, D. J. Effect of antioxidants on lipid stability in restructured beef steaks. *Journal of Food Science*, v.53, p.656-657, 1988.

CULLER, R.D., PARRISH, F.C., SMITH, G.C., CROSS, H.R. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical, and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. *Journal of Food Science*, v.43, p.1177-1180, 1978.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4^a Ed. Porto Alegre: Artmed, 2010, 900 p.

DRANSFIELD, E.; SOSNICKI, A. A. Relationship between muscle growth and poultry meat quality. *Poultry Science*, v.78, p.743-746, 1999.

DROVAL, A.A.; BENASSI, V.T.; ROSSA, A.; PRUDÊNCIO, S.H.; PAIÃO, F.G.; SHIMOKOMAKI, M. Consumer attitudes and preferences regarding pale, soft, and exudative broiler breast meat. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.21, p.502–507, 2012.

DUBOWITZ, V., BROOKE, M. **Muscle biopsy: a modern approach**. London, Sanders, 1973.

FELÍCIO, P.E. O ABC do PSE/DFD. **Alimentary Technology**, São Paulo, v.2, p. 54-57, 1986.

FLETCHER, D.L. Broiler breast meat color variation, pH and texture. **Poultry Science**, Savoy, v. 78, p. 1323-1327, 1999.

FLORES, J.; BERMELL, S. Propriedades funcionales de las proteínas miofibrilares: capacidad de retención de agua. **Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos.**, v.24, p.151-158, 1984.

FRAQUEZA, M. J.; CARDOSO, A. S.; FERREIRA, M. C.; BARRETO, A. S. Incidence of *pectoralis major* turkey muscles with light and dark color in a Portuguese slaughterhouse. **Poultry Science**, v. 85, p. 1992–2000, 2006.

FRONING, G.W.; BABJI, A.; MATHER, F.B. The effect of preslaughter temperature, stress, struggle and anesthetization on color and textural characteristics of turkey muscle. **Poultry Science**, v. 57, p. 630-633, 1978.

FUJII, J.; OTSU, K.; ZORZATO, F.; DE LEON, S.; KHANNA, V.K.; WEILAR, J.E.; O'BRIEN, P.J.; MAC LENNAN, D.H. Identification of mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. **Science**, v.253, p.448-451, 1991.

GELSE, K., POSCHL E., AIGNER T. Collagens - structure, function, and biosynthesis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.55, p.1531–1546, 2003.

GOLL, D.E.; THOMPSON, V.F.; LI, H.; WEI, W.; CONG, J. The calpain system. **Physiol Rev**, v. 83, p. 731-801, 2003.

GOMIDE, L.A.M.; RAMOS, E.M.; FONTES, P.R. **Tecnologia de abate e tipificação de carcaças**. 2ª Ed. Editora UFV, Viçosa, 2014.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C., GIMÉNEZ, B., LÓPEZ-CABALLERO, M. E., MONTERO, M. P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v.25, p.1813-1827, 2011.

GORNALL, A.G.; BARDWILL, C.J.; DAVID, M.M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **Journal of biological chemistry**, v.177, p.751-766, 1949.

GUARNIERI, P.D.; OLIVO, R.; SOARES, A.; IDA, E.I.; LARA, J.A.F.; SHIMOKOMAKI, M. Bem estar animal e qualidade da carne das aves: uma exigência dos consumidores. **Revista Nacional da Carne**, v.301, p.36-44, 2002.

GUARNIERI, P.D., SOARES, A.L., OLIVO, R., SCHNEIDER, J.P., MACEDO, R.M., IDA, E. I, SHIMOKOMAKI, M.. Preslaughter handling with water shower spray inhibits PSE

- (Pale, Soft, Exudative) broiler breast meat in commercial plant. Biochemical and ultrastructural observations. **Journal of Biochemistry**, v. 28, p. 269-277, 2004.
- HAMM, R. Biochemistry of meat hydration. **Advances in Food Research**, Cleveland, v.10, p. 335-443, 1960.
- HONIKEL, K. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**, v. 49, p. 447-457, 1998.
- JAYATHILAKAN, K.; SULTANA, K.; RADHAKRISHNA, K.; BAWA, A.S. Utilization of by-products and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 278-293, 2012.
- JEACOCKE, R.E. The concentrations of free magnesium and free calcium ions both increase in skeletal muscle fibres entering rigor mortis. **Meat Science**, v. 35, p. 27-48, 1993.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J.; KELLEY, R.O. **Basic Histology**. Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1989.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p. 91-123, 2008.
- KADLER, K. Extracellular matrix 1: Fibril-forming collagens. **Protein Profile**, v. 2, p. 491–619, 1995.
- KARIM, A.A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 563– 576, 2009.
- KITTIPHATTANABAWON, P., BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., KISHIMURA, H., SHAHIDI, F. Isolation and Characterisation of collagen from the skin of brownbanded bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*). **Food Chemistry**, v.119, p.1519–1526, 2010.
- KOLAR, K. Colorimetric determination of hidroxyproline as measure of collagen content in meat and meat products: NMK collaborative study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.73, p.54-57, 1990.
- KOOHMARAIE, M. The role of endogenous proteases in meat tenderness. **In Proceedings of 41st annual reciprocal meat conference**, Wyoming, USA, p. 89-100, 1988.
- KOOHMARAIE, M., KENT, M. P., SHACKELFORD, S. D., VEISETH, E., WHEELER T. Meat Tenderness and muscle growth: is there any relationship? **Meat Science**, v.62, p.345–352, 2002.
- KOOHMARAIE, M.; GEESINK, G.H. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. **Meat Science**, v. 74, p. 34-43, 2006.
- KRIESE, P. R., SOARES, A. L., GUARNIERI, P. D., PRUDENCIO, S. H., IDA, E. I., SHIMOKOMAKI, M. Biochemichal and sensory evaluation of intact and boned broiler breast meat during ageing. **Food Chemistry**, v.104, p.1618-1621, 2007.

KUBOTA, E.H.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Maturação da carne. Um processo enzimático. **Revista Nacional da Carne**, v. 18, p. 12-14, 1993.

LAFARGA, T.; HAYES, M. Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients. **Meat Science**, v. 98, p. 227-239, 2014.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. 6. ed. São Paulo: Artmed. 2005.

LEBIHAN-DUVAL, E.; BERRI, C.; SANTÉ, V.; ASTRUC, T.; RÉMIGNON, H.; LE POTTIER, G.; BENTLEY, J.; BEAUMONT, C.; FERNANDEZ, X. . Genetic parameters of meat technological quality traits in a grand-parental commercial line of turkey. **Genetics, Selection, Evolution**, v. 35, p. 623-635, 2003.

LEESON, A.; SUMMERS, J.D. Production and carcass characteristics of the Large White turkey. **Poultry Science**, v. 59, p. 1237-1245, 1980.

LI, Y.; SIEBENMORGEN, T.J.; GRIFFIN, C.L. Electrical stimulation in poultry: a review and evaluation. **Poultry Science**, v. 72, p. 7-22, 1993.

LIMA, R.A.S. Crescimento da produção brasileira de peru. Disponível em: <http://www.sna.agr.br/uploads/AnimalBusiness_16_10.pdf>. Acesso em 5 de Outubro de 2016.

LIN, H.; JIAO, H.C.; BUYSE, J.; DECUYPERE, E. Strategies for preventing heat stress in poultry. **World's Poultry Science Journal**, London, v.62, p.71-85, 2006.

LIRA, G.M. Influência do colágeno sobre a textura de carnes. **Higiene Alimentar**, v.11, p.12-18, 1997.

LIU, D.C.; LIN, Y.K.; CHEN, M.T. Optimum condition of extracting collagen from chicken feet and its characteristics. **Journal of Animal Science**, v. 14, p. 1638-1644, 2001.

LIU, D.; WEI, G.; LI, T.; HU, J.; LU, N.; REGENSTEIN, J.M.; ZHOU, P. Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. **Food Chemistry**, v. 172, p. 836-843, 2015.

LYNCH, M.P.; KERRY, J.P.; BUCKLEY, D.J.; FAUSTMAN, C.; MORRISSEY, P.A. Effect of dietary vitamin E supplementation on the colour and lipid stability of fresh, frozen and vacuum-packaged beef. **Meat Science**, v.52, p.95-99, 1999.

MACLENNAN, D.H.; PHILLIPS, M.S. Malignant hyperthermia. **Science**, Washington, v.256, p.789-794, 1992.

MACLENNAN, D.H.; RICE, W.J.; GREEN, N.M. The mechanism of Ca²⁺ transport by sarco(endo) plasma reticulum ATPases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, p. 28815-28818, 1997.

MAJUMDAR, S.; SINGH, D.P.; BHANJA, S.K.; AGARWAL, S.K. Turkey Farming - A New Venture for the Millennium. **Indian Poultry Science**, v.12-14, p. 242-245, 2000.

MAJUMDAR, S.; BHANJA, S.K.; SINGH, R.P.; AGARWAL, S.K. Effect of Age on the Carcass Traits and Meat Quality of Turkey Poults. **Journal of applied Animal Research**, 27:85-88, 2005.

MALTIN, C.; BALCERZAK, D.; TILLEY, R.; DELDAY, M. Determinants of meat quality: tenderness. **Proceedings of the Nutrition Society**. v. 62, p.337-347, 2003.

MATHEWS, C.K.; VAN HOLDE, K.E.; AHERN, K.G. Biochemistry. 3 ed. San Francisco: Benjamin Cummings, 1999, 924p.

MELODY, J.L.; LONERGAN, S.M.; ROWE, L.J.; HUIATT, T.W.; MAYES, M.S.; HUFF-LONERGAN, E. Early post-mortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. **Journal of Animal Science**, v.82, p.1195-1205, 2004.

MCKEE, S.R.; HARGIS, B.M.; SAMS, A.R. Pale, soft and exsudative meat in turkeys treated with succinylcholine. **Poultry Science**, v. 77, p. 356-360, 1998.

MICKELSON, J.R.; LOUIS, C.F. Malignant hyperthermia: excitation-contraction coupling, Ca²⁺ release channel, and cell Ca²⁺ regulation defects. **Physiology Review**, Baltimore, v.76, p. 537-592, 1996.

MINOLTA. **Precise color communication: color control from perception to instrumentation**. Japan, 1998. 59p.

MITCHELL, M. A.; KETTLEWELL, P. J. Physiological stress and welfare of broiler chickens in transit: solutions not problem! **Poultry Science**, v.77, p.1803-1814, 1998.

MURALIDHARAN, N., SHAKILA, R. J., SUKUMAR, D., JEYASEKARAN, G. Skin, bone and muscle collagen extraction from the trash fish, leather jacket (*Odonus niger*) and their characterization. **Journal of Food Science and Technology**, v.50, p. 1-8, 2013.

NAGAI, T.; TANOUE, Y.; KAI, N.; SUZUKI, N. Characterization of collagen from emu (*Dromaius novaehollandiae*) skins. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 2344-2351, 2015.

NAKAMURA, R.; SEKOGUCHI, S.; SATO, Y. The contribution of intramuscular collagen to the tenderness of meat from chicken with different ages. **Poultry Science**, v. 54, p. 1604-1612, 1975.

NAKAMURA, Y. N.; IWAMOTO, H.; SHIBA, N.; MIYACHI, H.; TABATA, S.; NISHIMURA, S. Developmental states of the collagen content, distribution and architecture in the pectoralis, iliobtibialis lateralis and puboischiofemoralis muscles of male Red Cornish × New Hampshire and normal broilers. **British Poultry Science**, v. 45, p. 31-40, 2004.

NALINANON, S.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; KISHIMURA, H. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). **Food Chemistry**, v. 104, p. 593-601, 2007.

NORTHCUTT, J. K.; FOEGEDING, E. A.; EDENS, F. W. Water-holding properties of thermally preconditioned chicken breast and leg meat. **Poultry Science**, v.73, p.308-316, 1994.

ODA, S.H.I.; SCHNEIDER, J.; SOARES, A.L.; BARBOSA, D.M.L.; IDA, E.I.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Detecção de cor em filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**, v.28, p.30-34, 2003.

OFFER, G.; KNIGHT, P. The structural basis of water-holding in meat. Part 1: General principles and water uptake in meat processing. In: LAWRIE, R. A. **Developments in meat science**. London : Elsevier, p. 63-171, 1988.

O'HALLORAN, G.R.; TROY, D.R.; BUCLEY, D.J.; REVILLE, W.J. The role of endogenous proteases in the tenderization of fast glycolysing muscle. **Meat Science**, v. 47, p. 187-200, 1997.

OLIVO, R.; SOARES, A.L.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Dietary Vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat function properties. **Journal of Food Biochemistry**, v.25, p.271-283, 2001.

OLIVO, R.; GUARNIERI, P.D.; SHIMOKOMAKI, M. Fatores que influenciam na cor de filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**, v. 25, p. 44-49, 2001.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: no caminho da pesquisa**. Cocal do Sul: IMPRINT, 155p. 2001.

OLIVO, R. Fatores que influenciam as características das matérias-primas cárneas e suas implicações tecnológicas. **Revista Nacional da Carne**, v.307, p.72-83, 2002.

OLIVO R. **O mundo das carnes: Ciência, Tecnologia e Mercado**. 3ªed. Criciúma: Ed. do autor, 2006.

ORDÓÑEZ, J.A.; RODRÍGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F.; SANZ, M.L.G.; MINGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALES, L.; CORTECERO, M.D.S. **Alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, v. 2, 2005, 279 p.

OWENS, C.M.; HIRSCHLER, E.M.; MCKEE, S.R.; MARTINEZ-DAWSON, R.; SAMS, A.R. The characterization and incidence of pale, soft, exudative turkey meat in a commercial plant. **Poultry Science**, v.79, p.553-558, 2000.

PEARSON, A.M.; YOUNG, R.B. **Muscle and meat biochemistry**. Academic Press, 1992, 457 p.

PELICANO, E. R. L., PRATA, L. F. Propriedade da carne e medidas instrumentais de qualidade. **Revista Nacional da Carne**, v.364, p.22-34, 2007.

PELIZER, L.H.; PONTIERI, M.H.; MORAES, I.O. Utilização de Resíduos AgroIndustriais em Processos Biotecnológicos como Perspectiva de Redução do Impacto Ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, v.2, p. 118-127, 2007.

PIPER, D.W.; FENTON, B.H. pH stability and activity curves of pepsin with special reference to their clinical importance. **Gut**, v. 6, p. 506-508, 1965.

PRICE, M. G. Striated muscle endosarcomeric and exosarcomeric lattices. **Advances in Structural Biology**, v.1, p.175–207, 1991.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L.A.. **Avaliação da Qualidade de Carnes: fundamentos e metodologias**. 1ªed. Viçosa: Ed. UFV, 2007.

RICARD-BLUM, S.; DUBLET, B.; VAN DER REST, M. Unconventional Collagens: Types VI, VII, VIII, IX, X, XII, XIV, XVI and XIX. **Protein Profile Series**. Oxford University Press, Oxford, UK, 2000.

RICARD-BLUM, S. The Collagen family. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**. v.3, p.1-19, 2011.

ROÇA, R.O.; SERRANO, A.M.. Influência do banho de aspersão *antemortem* em parâmetros bioquímicos e na eficiência da sangria da carne bovina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.30, p.1107-1115, 1995.

ROÇA, R.O. **Propriedades da carne**. Disponível em:<
<http://www.fca.unesp.br/Home/Instituicao/Departamentos/Gestaoetecnologia/Teses/Roca107.pdf>>. Acesso em: 24 outubro 2016.

ROSS, M. H., PAWLINA, W. **Histologia: Texto e Atlas**. Lippincott Williams & Wilkins, 6ed., 906 p., 2010.

ROWE, L.J.; LONERGAN, S.M.; ROTHCHILD, M.F.; HUFF-LONERGAN, E. Relationship between porcine Longissimus dorsi pH decline and u-calpain activity/autolysis and protein degradation. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 20 (Abstr), 2001.

SAMS, A. R.; MILLS, K. A. The effect of feed withdrawal duration on the responsiveness of broiler pectoralis to rigor mortis acceleration. **Poultry Science**, v.72, p. 1789-1796, 1993.

SAMS, A.R; MARTINEZ-DAWSON, R.; HIRSCHLER, E.M.; OWENS, C.M; WOELFEL, R.L. The Characterization and Incidence of Pale, Soft, and Exudative Broiler Meat in a Commercial Processing Plant. **Poultry Science**, v. 81, p. 579–584, 2002.

SANDERCOCK, D. A.; HUNTER, R. R.; NUTE, G. R.; MITCHEL, M. A.; HOCKING, P. M. C. Heat stress-induced alterations in blood acid-base status and skeletal muscle membrane integrity in broiler chickens at two ages: Implications for meat quality. **Poultry Science**, v.80, p.418-425, 2001.

SANTOS, H. C.; BRANDELLI, A.; AYUB, M. A .Z. Influence of post-mortem aging in tenderness of chicken breast fillets. **Ciência Rural**, v.34, p.905-910, 2004.

SANTOS, C. C.; DELGADO, E. F.; MENTEN, J. F. M.; PEDREIRA, A. C. M.; CASTILHO, C. J. C.; MOURÃO, G. B.; BROSSI, C.; SILVA, I. J. O. Sarcoplasmatic and myofibrillar protein changes caused by acute heat stress in broiler chicken. **Scientia Agricola**, v. 65, p. 453-458, 2008.

SCHLAMOWITZ, M.; PETERSON, L.U. Studies on the Optimum pH for the Action of Pepsin on “Native” and Denatured Bovine Serum Albumin and Bovine Hemoglobin. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 234, p. 3137-3145, 1959.

SCHMIDT, M.M.; DORNELLES, R.C.P.;MELLO, R.O.; KUBOTA, E.H.; MAZUTTI, M.A.; KEMPKA, A.P.; DEMIATE, I.M. Collagen extraction process, **International Food Research Journal**, v. 23, p. 913-922, 2016.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine handbook: theory and industry practice**. Hardcover, 2007, 348p.

SHAHZAD, M.; RIZVI, F.; KHAN, A.; SIDDIQUE, M.; KHAN, M.Z.; BUKHARI, S.M., Diagnosis of avian paramyxovirus type-1 infection in chicken by immunofluorescence technique. **International Journal of Agricultural Biol.**, v. 13, p. 266–270, 2011.

SHIMOKOMAKI, M.; DUANCE, V.C.; BAILEY, A.J. Identification of a new disulfide bonded collagen from cartilage. **FEBS Letters**, v. 121, p. 51-54, 1980.

SHIMOKOMAKI, M. Característica de Qualidade da Carne de Aves. **Avicultura Industrial**, São Paulo, ano 95, ed. 1126, n. 8, 2004.

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N.N.; FRANCO, B.D.G.M. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**. 1ª ed. São Paulo: Livraria Varela. 2006. 236 p.

SHOULDERS, M.D., RAINES, R.T. Collagen Structure and Stability. **Annual Review of Biochemistry**, v.78, p.929-958, 2009.

SILVA, T.F.; PENNA, A.L.B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, p. 530-539, 2012.

SIMÕES, G.S.; OBA, A.; MATSUO, T.; ROSSA, A.; SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E.I. 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.

SIMÕES, G.S. **Aproveitamento de subproduto de frigorífico: Extração, isolamento e caracterização de colágenos de túnica albugínea de suínos imunocastrados**. 2013. 119 p. Tese (Doutorado Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

SIMÕES, G.S.; SILVEIRA, E.T.F.; OLIVEIRA, S.R.; POLEZE, E.; ALLISON, J.R.D.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Optimum conditions for extracting collagen from the tunica albuginea of immunologically castrated pig testes and the functional properties of the isolated collagen. **Meat Science**, v. 96, p. 1460-1468, 2014.

SINTHUSAMRAN, S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*). **Food Chemistry**, v. 138, p. 2435-2441, 2013.

SOARES, A.L.; IDA, E.I.; MIYAMOTO, S.; BLAZQUEZ, F.J.H.; OLIVO, R.; PINHEIRO, J.W.; SHIMOKOMAKI, M. Phospholipase A₂ activity in poultry PSE, Pale, Soft, Exudative. **Journal Food Biochemistry**, v.27, p.309-319, 2003.

SOARES, A.L. **PSE (pale, soft, exudative) em frangos: Implementação de parâmetros de cor e avaliação bioquímica e estrutural do filé (*Pectoral's major*)**. 2003. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2003.

SOCAMPESTRE. Especial Peru. Revista da Associação Nacional de Criadores de Aves Campestres, Jan-Março, p. 14-15, 2006.

SOSNICK, A.A.; GREASER, M.L.; PIETRZAK, M.; POSPIECH, E.; SANTE, V. PSE-like syndrome in breast muscle of domestic turkeys: a review. **Journal of Muscle Foods**, v. 9, p. 13-23, 1998.

STATSOFT. Inc. Corporate. **STATISTICA** (data analysis software), version 7. Tulsa, Oklahoma, USA, 2004.

SUNADA, N.S.; ORRICO, A.C.A.; ORRICO JUNIOR, M.A.P.; CENTURION, S.R.; OLIVEIRA, A.B.M; FERNANDES, A.R.M.; LUCAS JUNIOR, J.; SENO, L.O. Compostagem de resíduo sólido de abatedouro avícola. **Ciência Rural**, v. 45, p. 178-183, 2015.

SWATLAND, H.J. **Structure and Development of Meat Animals and Poultry**. Boca Raton: CRC Press, 1994, 606p.

SWATLAND, H. J. **On line evaluation of meat**. Lancaster: Technomic, 1995, 343p.

TANAKA, M.C.Y.; SHIMOKOMAKI, M. Collagen types in mechanically deboned chicken meat. **Journal of Food Biochemistry**, v. 20, p. 215-225, 1996.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T. A distillation method for the quantitative determination of Malonaldehyde in rancid foods. **The Journal of the American Oil Chemist's Society**, v.37, p. 44-48, 1960.

UNECE- United Nations Economic Commission for Europe. (2012). Turkey Meat Carcasses and Parts. Retrieved December 09, 2016 from: http://https://www.unece.org/fileadmin/DAM/trade/agr/standard/meat/e/Turkey__358Rev1_2013.pdf.

USAPEEC - USA Poultry and Egg Export Council (Conselho de exportação de carne de aves e ovos dos Estados Unidos da América). **USA Turkey and Tirkey Products**. Disponível em: <<http://www.usapeec.org/buyersguide/USAPEECTurkeyBuyersGuide.pdf>> Acesso em 5 de Outubro de 2016.

USDA - United States Department Of Agriculture. (2015). **FAS databases**.

VARNAM, A.; SUTHERLAND, J.M. Meat and Meat Products: Technology, Chemistry and Microbiology. Springer, 1995, 445p.

VEISETH, E., SHACKELFORD, S. D., WHEELER, T. L., KOOHMARAIE, M. Effect of post-mortem storage on m-calpain and m-calpain in ovine skeletal muscle. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1502–1508, 2001.

VELDKAMP, T.; FERKET, P.R.; KWAKKEL, R.P.; NIXEY, C.; NOORDHUIZEN, J.P.T.M. Interaction between ambient temperature and supplementation of synthetic amino acids on performance and carcass parameters in commercial male turkeys. **Poultry Science**, v. 78, p. 1472-1477, 2000.

VON DER MARK, K. Localization of collagen types in tissues. **International Review of Connective Tissue Research**, v. 9, p. 265 – 324, 1981.

WALLACE, W.J.; HOUTCHENS, R.A.; MAXWELL, J.C.; CAUGHEY, W.S. Mechanism of autoxidation for hemoglobins and myoglobin. **The Journal of Biology Chemistry**, v.257, p.4966-4977, 1982.

WANG , L., YANG, B., DU, X., YANG, Y., LIU, J. Optimization of conditions for extraction of acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by response surface methodology. **Innovative of Food Science and Emerging Technologies**, v.9, p.604–607, 2008.

WANG, L., LIANG, Q., CHEN, T., WANG, Z., XU, J.; MA, H. Characterization of collagen from the skin of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). **Food Hydrocolloids**, v. 38, p. 104-109, 2014.

WARRIS, P. D.; KESTIN, S. C.; BROWN, S. N. The Depletion of glycogen stores and levels of dehydration in transported broilers. **British Veterinary Journal**, London, v.149, p.391-398, 1993.

WILHELM, A. E., MAGANHINI, M. B., HERNÁNDEZ-BLAZQUEZ, F. J., IDA, E. I., SHIMOKOMAKI, M. Protease activity and the ultrastructure of broiler chicken PSE (Pale, Soft, Exudative) meat. **Food Chemistry**, v.119, p.1201–1204, 2010.

WISMER-PEDERSEN, J. Quality of pork in relation to rate of pH change post-mortem. **Food Research**, Champaign, v.24, p.711-726, 1959.

WOESSNER Jr., J. F. The determination of hidroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.93, p.440-447, 1961.

YAN, M.; LI, B.; ZHAO, X.; REN, G.; ZHUANG, Y.; HOU, H.; ZHANG, X.; CHEN, L.; FAN, Y. Characterization of acid-soluble collagen from the skin of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*). **Food Chemistry**, v.107, p.1581-1586, 2008.

ZENG, S-H-K., ZHANG, C-H., LIN, H., YANG, P., HONG, P-Z., JIANG, Z. Isolation and characterisation of acid-solubilised collagen from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Food Chemistry**, v.116, p.879–883, 2009.

ZHANG, Y., LIU W., LI, G., SHI, B., MIAO, Y., WUB, X. Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Food Chemistry**, v.103, p.906–912, 2007.

ZHANG, M., LIU, W., LI, G. Isolation and characterisation of collagens from the skin of largefin longbarbel catfish (*Mystus macropterus*). **Food Chemistry**, v. 115, p.826–831, 2009.

ZHOU, C.; LI, Y.; YU, X.; YANG, H.; MA, H.; YAGOUB, A.E.A.; CHENG, Y.; HU, J.; OUT, P.N.Y. Extraction and characterization of chicken feet soluble collagen. **LWT- Food Science and Technology**, v. 74, p. 145-153, 2016.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados provenientes deste trabalho foram utilizados para redação de três artigos científicos conforme seguem.

5.1 Artigo Científico 1:

Further Physico-Chemical and Histological Characterization of PSE (Pale, Soft, Exudative) Turkey Meat in a Brazilian Commercial Processing Plant

Redigido para submissão conforme as normas do periódico *Food Chemistry*.

**Further physico-chemical and histological characterization of PSE (pale, soft, exudative)
turkey meat in a Brazilian commercial processing plant**

*Danielle C. B. Honorato¹, Rafael H. Carvalho², Adriana L. Soares¹, Ana Paula F.R.L.
Bracarense³, Paulo D. Guarnieri⁴, Massami Shimokomaki² and Elza I. Ida^{1*}*

*¹Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Departamento de Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil.*

*²Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Departamento de Medicina Veterinária,
Universidade Estadual de Londrina, PR.*

*³Laboratório de Patologia Animal, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade
Estadual de Londrina, PR.*

*⁴Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Universidade de São Paulo, SP,
Brasil.*

*Corresponding author: elida@uel.br

Address: Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de
Londrina, Londrina, PR, Brasil, CEP 86036-370.

TEL/FAX: 55 43- 3371 4080.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the physical-chemical and histological characteristics of PSE turkey meat from Brazilian commercial slaughterhouse. The samples were obtained from a processing plant located in southern Brazil. After 24 hours of slaughter, the PSE turkey breasts samples (Nicholas 700) were classified as $L^* \geq 53$ and these samples were analyzed for pH value, water holding capacity (WHC), cooking loss (CL), shear force (SF), myofibrillar fragmentation index (MFI), protein denaturation (PD) and histological aspects. The pH and WHC values in PSE meat were approximately 2.0% lower, while the CL was 10.0% higher than the Normal. Other significant differences were SF, MFI, PD of 13.0 %, 3.0% and 21.0%, respectively, higher in PSE meat. The muscle fiber diameter was approximately 19.5% shorter and the endomysium appeared enlarged promoted by the miofibrillar exudate water in the PSE meat. The PSE turkey breast meat presented significant changes in their physical, chemical and histological characteristics impairing its functional properties.

Keywords: Turkey meat, Functional Properties, PSE.

1. Introduction

The detection of PSE in turkey meat has been much discussion, since according to some reports, only the color measurement (L^*) is not sufficient for accurate detection of this abnormality (Molette, Remignon, Babile & Fernandez, 2008; Chan, Omana & Betti, 2011). However, our research group determined as the cutoff value for the characterization of PSE turkey meat in Brazil, an L^* value ≥ 53.0 (Carvalho et al., 2014). Other authors evaluated also the value of L^* and conclude that this measurement can be used to classify meat turkey PSE (Owens, Hirschler, McKee, Martinez-Dawson & Sams, 2000; Fraqueza, Cardoso, Ferreira & Barreto, 2006).

It is known that, the development of pale, soft and exudative (PSE) meat is due to accelerated post mortem glycolysis resulting in a rapid decline of pH while the carcass temperature is still warm (Wismer-Pedersen, 1959; Olivo, Soares, Ida & Shimokomaki, 2001; Barbut et al., 2008). Under these conditions, the functional properties of PSE meat altered because of myofibrils proteins denaturation (Bendall & Wismer-Perdersen, 1962; Olivo et al., 2001; Barbut et al., 2008). Therefore, PSE meat has become an economical problem for the poultry industry (Olivo et al., 2001, Carvalho et al., 2014).

The rapid post-mortem glycolysis which contributes to the development of PSE meat in poultry, is influenced by the conditions of transport from the farm to the commercial plant due to thermal stress suffered by the animals before slaughtering (Froning, Babji & Mather, 1978; Mitchell & Kettlewell, 1998; Simões, Oba, Matsuo, Rossa, Shimokomaki & Ida, 2009; Langer et al., 2010; Spurio et al., 2016).

In pigs, the development of PSE meat is related to exacerbated release of Ca^{2+} promoted by a genetic mutation in the ryanodine receptor located on the sarcoplasmic reticulum of skeletal muscle cells (Fujii et al., 1991). Although not as yet found, there are indications of similar biological involvement in poultry (Owens et al., 2000; Marchi et al., 2009).

In Brazil only our research group has evaluated the incidence and characteristics in turkey breasts PSE in a commercial plant, as well as the impacts of the use of such meat in processed products (Carvalho et al., 2014). Therefore, to continue the investigation of PSE turkey breasts, the aim of this study was to evaluate the physical, chemical and histological characteristics of PSE turkey meat in a Brazilian commercial slaughterhouse.

2. Material and Methods

2.1. Sample preparation

The turkey breast meat (*pectoralis major*) from Nicholas 700 lineage of 140 days old and with an average live weight of 18 ± 2 kg were used as samples. They were obtained in a commercial plant located in southern Brazil and slaughtered in accordance with industry standard practices of hanging, electrically stunning, bleeding, scalding, defeathering, evisceration, carcass cooling in the cooling tunnel for 6 h at 6 °C and boning. Then, the breast samples were collected, cooled down to 4 °C for 24 h and the PSE meat characterization performed by the color measurement (L^*) as Carvalho et al. (2014).

2.2. Classification of PSE meat

On the rear surface of the skinless samples, the L^* values were determined (lightness) using the Minolta CR400 colorimeter (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan) and standard illuminant D65. The L^* , a^* e b^* values were obtained in three different points (duplicate of those points, totaling six results for breast) on the same sample: the proximal extremity of the muscle, the distal extremity, and the medial side halfway between the proximal and the distal extremity. The breasts were classified as PSE, when $L^* \geq 53$ and normal when $L^* < 53$, as reported by Carvalho et al. (2014) and Owens et al. (2000).

2.3. Characterization of PSE and normal meat

The meat samples were classified as PSE and Normal and used for evaluation of physical and chemical characterization. For histological analysis, samples were cut and fixed in Bouin solution after the classification. For the analysis of myofibrillar fragmentation index (MFI), the sorted samples were frozen at -18 °C.

2.3.1. pH measurement

The pH was measured in triplicate after the classification of samples in PSE and Normal by inserting electrodes into the *pectoralis major* using a contact pH meter (Testo AG, Lenzkirch, Germany) as described by Carvalho et al. (2014).

2.3.2. Water holding capacity (WHC) evaluation

The WHC was determined according to the procedure described by Hamm (1960) with slight modifications. The samples were collected from the cranial side and cut into cubes of $2.0 \text{ g} \pm 0.10$ and placed between two filter papers disposed between two acrylic plates. A cylindrical weight of 10 kg was carefully accommodated over the plates for 5 min then samples were removed and reweighed. The WHC was determined using the following relation: $100 - [(W_i - W_f / W_i) \times 100]$ where W_i and W_f are the initial and final weights of the samples, respectively. The results of WHC were expressed in percentage.

2.3.3. Cook loss (CL) measurement

This measurement was performed according to Honikel (1998). The samples were weighed before and after cooking, until it reaches the internal temperature of 72-75 °C, for about 15 min. The results were expressed as a percentage based on the weight difference.

2.3.4. Shear force measurement (SF)

The texture analysis of the turkey breasts was performed by measuring the shear force (SF), as described in Honikel (1998) and Droval et al. (2012). Samples were packed in plastic bags and cooked in a water bath until the internal temperature reached 75 °C. After cooling to room temperature the samples were cut into sizes of 1 x 1 x 2 cm³ (height, width, length) and shear force was evaluated by texturometer TATX-2i. The results were expressed in Newton (N).

2.3.5. Myofibrillar fragmentation index (MFI)

MFI was determined as the indirect measurement of calpain activity, according to Culler, Parrish, Smith and Cross (1978) and described in Wilhem et al. (2010). Four-gram muscle samples free of external fat and visible connective tissue were homogenized for 30 s in 20 mL of MFI buffer (100 mM KCl, 20 mM potassium phosphate, 1 mM EDTA, 1 mM MgCl₂, and 1 mM NaN₃) at pH 7.0. The homogenate was centrifuged at 10 x 10³ g for 15 min at 2 °C. The supernatant was separated (S₁) and the pellet was re-suspended in 20 mL of the MFI buffer and centrifuged at 1000 x g for 15 min at 2 °C. The supernatant separated (S₂) and the pellet was suspended in 10 mL of MFI buffer. The myofibril suspension (S₃) was filtered to remove connective tissue, mixed with S₁ and S₂ and protein concentration was analyzed using the Biuret method (Gornall, Bardwill & David, 1949). Suspension aliquots were diluted in MFI buffer to a final protein concentration of 0.5 mg/mL and poured into a cuvette for immediate absorbance measurement at 540 nm with a spectrophotometer. MFI was expressed as A_{540 nm} x 200.

2.3.6. Protein denaturation (PD)

The PD determination was performed by analyzing the degree of denaturation of soluble proteins and according to the methodology described by Swatland (1995). 5 g of sample were homogenized with 15 ml of distilled water and centrifuged at 10×10^3 g for 10 min (Eppendorf 5810R, Eppendorf AG, Hamburg, Germany). The supernatant was filtered with filter paper and 1.0 ml was transferred to a tube with screw cap containing 5.0 ml of citrate-phosphate buffer 0.2M and pH 4.6 and warmed to 20 ± 2 °C for 30 min. The reading of transmittance was performed at 600 nm (spectrophotometer Libra S22, Biochrom Ltd. Cambridge, England) against the blank.

2.3.7. Histological evaluation by optical microscopy

For histological analysis samples were lengthwise and crosswise cut (approximately 1.0 cm length x 1.0 cm width x 3 mm thickness) and fixed in Bouin solution and thus dehydrated in ethanol, diaphanized in xylol and embedded in paraffin and cut on a microtome with a thickness of 5 μ m. The sections stained with hematoxylin and eosin (HE) and was evaluated for general morphology and the degree of cells shrinkage by measuring the cells diameter according to Dubowitz and Brooke (1973) using MOTIC Image Plus 2.0 ML® program (MOTIC Image Plus Motic Instruments Richmond, Canada). In each image, randomly diameter of 20 cells was evaluated by using a 40x objective for a total of 200 cells per sample groups.

2.4. Statistical analysis

The Statistical analysis was performed using Statistic version 7.0 for Windows. The student t test at 5% significance was used to compare the PSE and normal turkey breasts with respect to the average of color measurements (L^* , a^* , b^*), pH, WHC, CL, PD, MFI, SF and fiber

diameter. The Pearson correlation coefficient was calculated to determine the correlation between L^* , pH, WHC, CL, PD, MFI and SF measures in PSE and normal breasts turkey.

3. Results and Discussion

3.1 Physical-chemical characteristics of PSE turkey meat

The color is an important quality attribute in meat, and can often be used as an indicator for PSE meat (Barbut, 1993; Chizzolini, Novelli, Badiani, Rosa & Delbano, 1993; Kauffman et al., 1993). In the present work, the turkey breasts were classified as PSE when $L^* \geq 53$ and normal when $L^* < 53$ using the criterion of Owens et al. (2000) and Carvalho et al. (2014). It was observed (Table 1) that measures L^* significantly different ($p < 0.05$) between the PSE and normal turkey breasts, as reported by Carvalho et al. (2014). Similar results in turkey breasts were also obtained by Barbut (1993, 1994 and 1996) and McKee and Sams (1997). The high pallor of turkey breasts can be attributed, according Swatland (1993) by the greater light scattering caused by denaturation of the protein. However, a^* values did not differ ($p > 0.05$) between PSE and normal turkey breasts, and the same was also observed by Fletcher, Qiao and Smith (2001) in PSE and normal broiler breasts. However, the b^* values presented differences ($p < 0.05$) between PSE and normal turkey breasts. These results suggest that the turkey breasts with paler color are also more yellow. PSE breasts broiler also presented higher b^* values (Qiao, Fletcher, Smith & Northcutt, 2001; Soares, Lara, Ida, Guarnieri, Olivo & Shimokomaki, 2002), although Fletcher et al. (2000) found no significant difference in b^* value between pale and normal broiler breasts.

The pH value (Table 1) of the PSE and normal turkey breasts differed from each other ($p < 0.05$) and the pH of the PSE turkey breasts was smaller and pale color, as observed by L^* value. The lowest pH value in PSE turkey breasts was also associated with pale staining (Van

Hoof, 1979; Barbut, 1993; Barbut, 1996; McCurdy, Barbut & Quinton, 1996; McKee & Sams, 1997; Rathgeber, Boles & Shand 1999; Carvalho et al., 2014), as well as the reduction of the WHC (Barbut 1993, Barbut 1996; McCurdy et al., 1996; McKee & Sams, 1997; McKee & Sams, 1998; Rathgeber et al., 1999) and protein denaturation (Sosnicki, Greaser, Pietrzak, Pospiech & Sante, 1998). In addition, lower pH values in PSE turkey breasts indicate the occurrence a rapid postmortem glycolysis (McKee & Sams, 1997; Pietrzak, Greaser & Sosnicki, 1997; Carvalho et al., 2014) while the carcass was still warm (Sosnicki et al., 1998).

The WHC (Table 1) of the PSE turkey breasts was ($p < 0.05$) lower than the normal turkey breasts, while the percentage of CL (Table 1) of the PSE turkey breasts were higher ($p < 0.05$) compared to the normal turkey breasts. The CL of PSE turkey breasts was 10% higher than the normal turkey breasts. The largest CL and lower WHC of PSE turkey breasts can be attributed to the rapid post mortem glycolysis which caused denaturation of myofibrillar proteins and thus decreased its WHC (Bendall & Swatland, 1988; Barbut, 1993). In relation to PD (Table 1), it was observed that it was 21% greater compared to the normal turkey breasts. Similar results were also observed by other reports as in broiler breasts PSE and normal (Olivo et al., 2001, Barbut et al., 2008) and turkey breasts (Sosnick, 1993; Molette, Rémignon & Babile, 2003). The denaturation of myofibrillar proteins influenced the functional properties of PSE turkey meat and when used in the processing of smoked meat products led to a reduction of yield and moisture of the final meat products (Carvalho et al., 2014).

The MFI measures indirectly the protease activity and thus it can be correlated with the SF measurement. It is observed in Table 1 that the MFI of turkey breasts PSE was higher ($p < 0.05$) than the normal turkey breasts and provided a decrease in SF of 13% in broiler PSE compared with normal samples. These results were similar to broiler PSE meat samples described by Wilhelm et al. (2010) who also observed higher proteolysis and less SF. This

fact can be confirmed by the negative and significant correlation ($R = -0.35$, $p < 0.05$) between the MFI and SF values in turkey PSE as seen in Table 2 i.e. the obvious as MFI or protease activity increases, the SF decreases and the PSE samples become tender. Similar situation was also observed by Kriese et al. (2007) and Wilhelm et al. (2010) in PSE broiler breasts. According to Guarnieri et al. (2004) and Kriese et al. (2007) the meat tenderness is directly related with the calpain enzyme system that digests the sarcomere structure, particularly the region of the Z line. Also, Soares et al. (2003), observed the excessive increase of protease activity in PSE broiler may be due to high concentration of intracellular Ca^{+2} , which carries a metabolic acceleration and an increase at the Ca^{+2} ion influx at the sarcoplasm. The combination of these factors in PSE broiler breasts promotes early activation of calpain system and exacerbated proteolytic activity that affects the integrity of the muscle fiber structure harming the functional properties of proteins (Wilhelm et al., 2010).

The significant positive Pearson correlation (Table 2) of PSE turkey breasts between L^* and the CL (0.56; $p < 0.05$), PD (0.45; $p < 0.05$) and MFI (0.44, $p < 0.05$) and negative correlation with SF (-0.31; $p < 0.10$) and pH (-0.4; $p < 0.05$) confirm that the PSE turkey meat is paler and have higher CL, PD and MFI values and lower values of SF and pH.

It is remarkable that the values of L^* and CL in PSE and normal turkey breasts showed high positive and significant correlation corroborating the results in Barbut (1993). The author also reported that the CL in the meat industry can be used as an important parameter, because the industries seek raw materials with high ability to hold water and maintain the moisture during cooking of the product. Furthermore, the CL excessive in processed products with the turkey breasts can lead to an increase in the costs of the final products.

The MFI values of PSE turkey breasts positively correlated with L^* (0.44; $p < 0.05$), CL (0.3; $p < 0.10$) and PD (0.41; $p < 0.05$) and negatively with pH (-0.28; $p < 0.10$), WHC (-0.31; $p < 0.10$) and SF (-0.35, $p < 0.05$) indicating a loss of meat functional properties.

The correlation of pH was negative and significant in relation to L* (-0.40, $p < 0.05$) and MFI (-0.28; $p < 0.10$), meaning that the lower the pH values higher for both L* and MFI, whose consequence observed was proteolysis (MFI) higher as seen in Table 1 for the PSE turkey breasts. The negative and significant correlation between pH and L* in turkey breasts was also observed by Barbut (1993), Carvalho et al. (2014), McCurdy et al. (1996) and Owens et al. (2000).

3.2 Histological characteristics of PSE turkey meat

In the histological evaluation of cross sections of skeletal muscle (*pectoralis major*) of turkey breasts have been observed different aspects between the muscles classified with PSE and normal (Figures 1A and 1B). In PSE turkey breasts was observed (Figure 1B) an extracellular space greater in the endomysium than in the normal turkey breasts (Figure 1A). In addition, it was found that the muscle fibers of PSE turkey breasts are not arranged uniform way and have reduced diameter due to muscle contraction and emergence of large gaps in the endomysium region (Figure 1B). Greater spacing between the muscle fibers and between the fiber bundles in PSE broiler breast was also observed by Barbut, Zhang and Marcone (2005). However, the muscle fibers of the normal turkey breasts are arranged more dense and compact, taking completely all the endomysium space. The myofibrils of normal turkey breasts have appearance more uniform, regular edges and take up almost all the intracellular space.

The diameter of muscle fibers of PSE turkey breast was approximately 19.5% lower compared to normal turkey breasts (Table 1 and Figure 1). The smaller diameter of the muscle fibers of PSE turkey breasts occurred as a result of their greater water loss, evidenced by lower WHC (Table 1). Using optical microscopy, Guarnieri et al. (2004) observed that the muscle fibers of PSE broiler breasts diameter presented 10% lower compared to the control

group. Barbut et al. (2005) also observed greater spacing between the muscle fibers and between the fiber bundles in PSE broiler meat.

4. Conclusion

Histological measures of PSE turkey had reduced diameter and an extracellular space greater in the endomysium. The diameter of the fibers, FC and WHC of PSE turkey decrease by 19.5%, 13% and 2% respectively, while PPC, DP and MFI of PSE turkey increased by 10%, 21% and 3% compared to the normal turkey. The results showed that PSE turkey meat presented significant changes in their physical, chemical and histological characteristics impairing its functional properties.

1 **References**

- 2 Barbut, S. (1993). Color measurements for evaluating the pale soft exudative (PSE)
3 occurrence in turkey meat. *Food Research International*, 26, 39-43.
- 4 Barbut, S. (1994). Probing into turkey meat quality. *Turkey World*, March, 22-23.
- 5 Barbut, S. (1996). Estimates and detection of the PSE problem in young turkey breast meat.
6 *Canadian Journal Animal Science*, 76, 455-457.
- 7 Barbut, S., Zhang, L., & Marcone, M. (2005). Effects of pale, normal, and dark chicken breast
8 meat on microstructure, extractable proteins, and cooking of marinated fillets. *Poultry*
9 *Science*, 84, 797–802.
- 10 Barbut, S., Sosnicki, A. A., Lonergan, S. M., Knapp, T., Ciobanu, D. C., Gatcliffe, L. J., Huff-
11 Lonergan, E., & Wilson, E.W. (2008). Progress in reducing the pale, soft and
12 exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Science*, 79, 46-63.
- 13 Bendall, J.R., & Wismer-Pedersen, J. (1962). Some properties of the fibrillar proteins of
14 normal and watery pork muscle. *Journal of Food Science*, 27, 144-159.
- 15 Bendall, J. R., & Swatland, H. J. (1988). A review of the relationships of pH with physical
16 aspects of pork quality. *Meat Science*, 24, 85- 126.
- 17 Carvalho, R. H., Soares, A. L, Honorato, D. C. B., Guarnieri, P. D., Pedrão, M. R., Paião, F.
18 G., Oba, A., Ida, E. I., & Shimokomaki, M. (2014). The incidence of pale, soft and
19 exudative (PSE) turkey meat at a Brazilian commercial plant and the functional
20 properties in its meat product. *LWT – Food Science and Technology*, 59, 883-888.
- 21 Chan, J. T. Y., Omana, D.A., & Betti, M. (2011). Effect of ultimate pH and freezing on the
22 biochemical properties of proteins in turkey breast meat. *Food Chemistry*, 127, 109-
23 117.

- 24 Chizzolini, R., Novelli, E., Badiani, A., Rosa, P., & Delbano, G. (1993). Objective
25 measurements of pork quality: Evaluation of various techniques. *Meat Science*, 34,
26 49–77.
- 27 Culler, R. D., Parrish, F. C., Jr., Smith, G. C., & Cross, H. R. (1978). Relationship of
28 myofibril fragmentation index to certain chemical, physical, and sensory
29 characteristics of bovine longissimus muscle. *Journal of Food Science*, 43, 1177–
30 1180.
- 31 Droval, A. A., Benassi, V. T., Rossa, A., Prudêncio, S. H., Paião, F. G. & Shimokomaki, M.
32 (2012). Consumer attitudes and preferences regarding pale, soft, and exudative broiler
33 breast meat. *Journal Applied Poultry Research*, 21, 502–507.
- 34 Dubowitz, V., & Brooke, M. *Muscle biopsy: a modern approach*. London, Sunders, 1973.
- 35 Fletcher, D. L., Qiao, M., & Smith, D.P. (2000). The relationship of raw broiler breast meat
36 color and pH to cooked meat color and pH. *Poultry Science*, 79, 784-788.
- 37 Fraqueza, M. J., Cardoso, A. S., Ferreira, M. C., & Barreto, A. S. (2006). Incidence of
38 pectoralis major turkey muscles with light and dark color in a Portuguese
39 slaughterhouse. *Poultry Science*, 85, 1992-2000.
- 40 Froning, G. W., Babji, A. S., & Mather, F. B. (1978). The effect of preslaughter temperatures,
41 stress, struggle and anesthetization on color and textural characteristics of turkey
42 muscle. *Poultry Science*, 57, 630-633.
- 43 Fujii, J., Otsu, K., Zorzato, F., Leon, S., Khanna, V. K., Weiler, J. E., O'Brien, P. J., &
44 Maclennan, D.H. (1991). Identification of mutation in porcine ryanodine receptor
45 associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253, 448-451.
- 46 Gornall, A. G., Bardwill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by
47 means of the biuret reaction. *Journal of biological chemistry*, 177, 751-766.

- 48 Guarnieri, P. D., Soares, A. L., Olivo, R., Schneider, J. P., Macedo, R. M., Ida, E. I., &
49 Shimokomaki, M. (2004). Preslaughter handling with water shower spray inhibits PSE
50 (pale, soft, exudative) broiler breast meat in a commercial plant. *Biochemical and*
51 *ultrastructural observations. Journal of Food Biochemistry*, 28, 269–277.
- 52 Hamm, R. (1960). Biochemistry of meat hydration. *Advances in Food Research*, 10, 355-362.
- 53 Honikel, K. O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of
54 meat. *Meat Science*, 49, 447–457.
- 55 Kauffman, R. G., Sybesma, W., Smulders, F. J. M., Eikelenboom, G., Engel, B., Van Laack,
56 R. L. J. M., Hoving-Bolink, A. H., Sterrenburg, P., Nordheim, E.V., Walstra, P., &
57 Van der Wal, P.G. (1993). The effectiveness of examining early post-mortem
58 musculature to predict ultimate pork quality. *Meat Science*, 34, 283– 300.
- 59 Kriese, P. R., Soares, A. L., Guarnieri, P. D., Prudencio, S. H., Ida, E. I., & Shimokomaki, M.
60 (2007). Biochemical and sensorial evaluation of intact and boned broiler breast meat
61 tenderness during ageing. *Food Chemistry*, 104, 1618–1621.
- 62 Langer, R. O. D. S., Simões, G. S., Soares, A. L., Oba, A., Rossa, A., Shimokomaki, M., &
63 Ida, E.I. (2010). Broiler transportation conditions in a Brazilian commercial line and
64 the occurrence of breast PSE (Pale, Soft, Exudative) meat and DFD-like (Dark, Firm,
65 Dry) meat. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53, 1161-1167.
- 66 Marchi, D. F., Oba, A., Ziober, I. L.; Soares, A. L.; Ida, E. I.; Shimokomaki, M. (2009).
67 Development of a gás chamber for detecting broiler chicken halothane sensitivity and
68 PSE (Pase, Soft, Exudative) meat formation. *Brazilian Archives of Biology and*
69 *Technology*, 52, 189-194.
- 70 McCurdy, R. D., Barbut, S., & Quinton, M. (1996). Seasonal effect on pale soft exudative
71 (PSE) occurrence in young turkey breast meat. *Food Research International*, 29, 363-
72 366.

- 73 McKee, S. R., & Sams, A. R. (1997). The effect of seasonal heat stress on rigor development
74 and the incidence of pale, soft, exudative turkey meat. *Poultry Science*, 76, 1616–
75 1620.
- 76 McKee, S. R., & Sams, A. R. (1998). Rigor mortis development at elevated temperatures
77 induces pale exudative turkey meat characteristics. *Poultry Science*, 77, 169-174.
- 78 Mitchell, M. A., & Kettlewell, P. J. (1998). Physiological stress and welfare of broiler
79 chickens in transit: solutions not problems! *Poultry Science*, 77, 1803-1814.
- 80 Molette, C., Réminon, H., & Babilé, R. (2003). Maintaining muscles at a high post-mortem
81 temperature induces PSE-like meat in turkey. *Meat Science*, 63, 525-532.
- 82 Molette, C., Remignon, H., Babile, R., & Fernandez, X. (2008). Meat color alterations
83 are not necessarily associated with other PSE-like meat defects in turkey. *Revue de medecine*
84 *veterinaire*, 159, 293-297.
- 85 Olivo, R., Soares, A. L., Ida, E. I., & Shimokomaki, M. (2001). Dietary vitamin E inhibits
86 poultry PSE and improves meat functional properties. *Journal of Food Biochemistry*,
87 25, 271-283.
- 88 Owens, C. M., Hirschler, E. M., McKee, S. R., Martinez-Dawson, R., & Sams, A. R. (2000).
89 The characterization and incidence of pale, soft, exudative turkey meat in a
90 commercial plant. *Poultry Science*, 79, 553-558.
- 91 Pietrzak, M., Greaser, M. L., & Sosnicki, A.A. (1997). Effect of rapid rigor mortis processes
92 on protein functionality in Pectoralis major muscle of domestic turkey. *Journal of*
93 *Animal Science*, 75, 2106–2116.
- 94 Qiao, M., Fletcher, D. L., Smith, D. P., & Northcutt, J. K. (2001). The effect of broiler breast
95 meat color on pH, moisture, water-holding capacity and emulsification capacity.
96 *Poultry Science*, 80, 676-680.

- 97 Rathgeber, B. M., Boles, J. A., Shand, P. J. (1999). Rapid postmortem decline and delayed
98 chilling reduce quality of turkey breast meat. *Poultry Science*, 78, 477–484.
- 99 Simões, G. S., Oba, A., Matsuo, T., Rossa, A., Shimokomaki, M., & Ida, E. I. (2009). Vehicle
100 thermal microclimate evaluation during Brazilian summer broiler transport and the
101 occurrence of PSE (Pale, Soft, Exudative) meat. *Brazilian Archives of Biology and
102 Technology*, 52, 205-211.
- 103 Soares, A. L., Lara, J. A. F., Ida, E. I., Guarnieri, P. D., Olivo, R., & Shimokomaki, M.
104 Variation in the color of Brazilian broiler breast fillet. *Proceedings of International
105 Congress of Meat Science and Technology*, Roma, 48, 540-541, 2002.
- 106 Soares, A. L., Ida, E. I., Miyamoto, S., Hernández-Blazquez, F. J., Olivo, R., Pinheiro, J. W.,
107 & Shimokomaki, M. (2003). Phospholipase A2 activity in poultry PSE Pale, Soft,
108 Exudative meat. *Journal of Food Biochemistry*, 27, 309-320.
- 109 Sosnicki, A. A. (1993). Is the modern turkey prone to pale, soft, exudative (PSE) breast
110 muscle conditions. *Meat Focus International*, 2, 75-78.
- 111 Sosnicki, A. A., Greaser, M. L., Pietrzak, M., Pospiech, E., & Sante, V. (1998). PSE-like
112 syndrome in breast muscle of domestic turkeys: a review. *Journal of Muscle Foods*, 9,
113 13-23.
- 114 Spurio, R. S., Carvalho, R. H., Silveira-Junior, V., Grespan, M., Oba, A., Shimokomaki, M.
115 (2016). Improving transport container design to reduce broiler chicken PSE (pale, soft,
116 exudative) meat in Brazil. *Animal Science Journal*, 87, 277-283.
- 117 Swatland, H. J. (1993). Paleness, softness, and exudation in pork- Review. Pages 273–286 in
118 *Pork Quality: Genetic and Metabolic Factors*. E. Poulanne & D. I. Demeyer, eds. C.
119 A. B. International, Wallingford, UK.
- 120 Swatland, H. J. (1995). On line evaluation of meat. Lancaster: *Technomic*, 343p.

- 121 Van Hoof, J. (1979). Influence of ante- and peri-mortem factors on biochemical and physical
122 characteristics of turkey breast muscle. *Veterinary Quarterly*, 1, 29-36.
- 123 Wilhelm, A. E., Maganhini, M. B., Hernández-Blazquez, F. J., Ida, E. I., & Shimokomaki, M.
124 (2010). Protease activity and the ultrastructure of broiler chicken PSE (pale, soft,
125 exudative) meat. *Food Chemistry*, 119, 1201-1204.
- 126 Wismer-Pedersen, J. (1959). Quality of pork in relation to rate of pH change post mortem.
127 *Food Research, Champaign*, 24, 711-726.

128

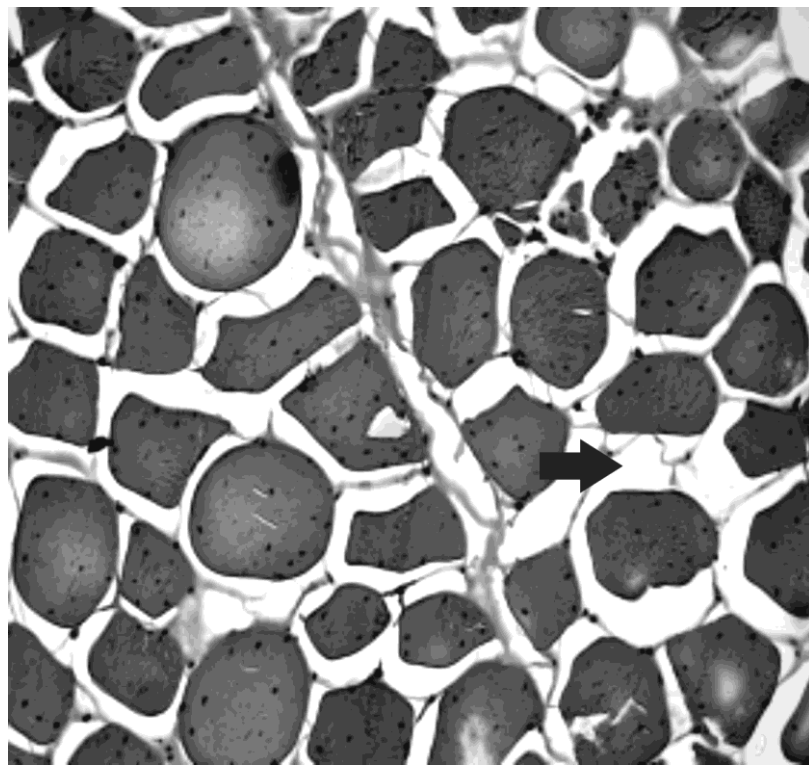
129 **FINANCIAL SUPPORT**

- 130 DCBH CAPES scholarships as graduate students in the Food Science Graduate Program,
131 Department of Food Science and Technology, Londrina State University, Paraná, Brazil. EII
132 is CNPq Research Fellows. This work was funded by CAPES and CNPq Process.

133 FIGURES CAPTION



(A)

134
135
136

(B)

137
138
139
140
141

Figure 1. Photomicrograph of cross-sectional muscle *pectoralis major* of normal turkey breast (A) and PSE turkey breast (B). Arrow = endomysium. HE staining, 20x lens, bar of 100 μ m (micrometers).

142 **Table 1.** Characterization physical, chemical and histological of the PSE and normal turkey
 143 breasts (*pectoralis major*)

Parameters	Normal (n= 30)	PSE (n= 24)	P
L*	50.68 ^b ± 2.62	55.69 ^a ± 1.44	0.000010
a*	4.19 ^a ± 0.87	4.61 ^a ± 1.01	0.081431
b*	3.89 ^b ± 1.14	5.11 ^a ± 0.78	0.000018
pH	6.00 ^a ± 0.08	5.90 ^b ± 0.06	0.045507
WHC (%)	76.54 ^a ± 2.53	75.17 ^b ± 2.39	0.044868
CL (%)	21.29 ^b ± 2.61	23.37 ^a ± 1.89	0.001454
PD	8.29 ^b ± 3.20	10.05 ^a ± 2.76	0.035144
MFI	51.98 ^b ± 1.86	53.76 ^a ± 2.50	0.033795
SF (N)	24.91 ^a ± 3.44	22.11 ^b ± 2.32	0.004167
Fiber diameter (µm)	75.27 ^a ± 7.96	62.99 ^b ± 8.61	0.000131

144 WHC = water holding capacity, CL = cooking loss, PD = protein denaturation, MFI = myofibrillar fragmentation index, SF
 145 (N) = shear force. ^{a,b} Means followed by different letters in the same line differ by Student's t test (p <0.05).

Table 2. Pearson correlation between the biochemical and physicochemical parameters of turkey breasts (*pectoralis major*) 24 h post-mortem

	pH	MFI	PD	SF	WHC	CL
L*	-0.40*	0.44*	0.45*	-0.31**	-0.22	0.56*
CL	-0.06	0.30**	0.13	-0.33**	-0.29**	
WHC	0.21	-0.31**	-0.28**	0.32**		
SF	0.11	-0.35*	-0.29**			
PD	-0.22	0.41*				
MFI	-0.28**					

WHC = water holding capacity, CL = cooking loss, PD = protein denaturation, MFI = myofibrillar fragmentation index, SF (N) = shear force. *p<0.05; **p<0.10

5.2 Artigo Científico 2:

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FÍSICA E ESTABILIDADE OXIDATIVA DOS
CORTES COMERCIAIS DE PERU**

Foi redigido para posterior submissão ao periódico *Journal of Food Composition and Analysis*.

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FÍSICA E ESTABILIDADE OXIDATIVA DOS
CORTES COMERCIAIS DE PERU**

Danielle C. B. Honorato ¹, Rafael H. Carvalho ², Adriana L. Soares ¹, Paulo D. Guarnieri ³,
Massami Shimokomaki ² e Elza I. Ida ^{1*}

¹ Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos,
Londrina, PR, Brasil; ² Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Medicina
Veterinária Preventiva, Londrina, PR, Brasil; ³ Universidade de São Paulo, Programa de Pós
Graduação em Ciência de Alimentos, São Paulo, SP, Brasil.

^{1*} Autor correspondente: elida@uel.br

Endereço: Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de
Londrina, Londrina, PR, Brasil, 86057-970.

TEL.: (43) 3371 4080.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi caracterizar quanto à composição química, física e estabilidade oxidativa os diferentes cortes comerciais de peru, tais como asa, coxa, peito, pele, pescoço e sobrecoxa. Os cortes comerciais (Nicholas 700) foram coletados em um abatedouro comercial localizado na região sul do Brasil e avaliadas quanto às medidas de pH e cor (L^* , a^* , b^*), composição química, perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa. Dos cortes comerciais de peru, o peito apresentou maior conteúdo de proteínas, cinzas, ácidos graxos poliinsaturados (AGP), ômega 3 e ômega 6 e maior estabilidade oxidativa. A asa, coxa, pescoço e sobrecoxa apresentaram a composição química, cor e perfil de ácidos graxos similares. A pele apresentou menor conteúdo de proteínas, cinzas, AGP, ômega 3 e ômega 6 e menor estabilidade oxidativa. Os cortes comerciais de asa, coxa, peito, pescoço e sobrecoxa de peru são fontes nutricionais importantes.

Palavras-chave: Peru; ácidos graxos; proteínas, oxidação lipídica.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de carne de peru após os Estados Unidos e União Européia (USDA, 2015). No entanto, o consumo da carne de peru ainda é baixo em relação às carnes de frango e bovinos (ABPA, 2016), possivelmente, devido à falta de divulgação e conhecimento sobre a qualidade destas carnes.

A comercialização de partes ou cortes de carnes de peru, *in natura*, para consumo humano (UNECE, 2012) pode ser realizada na forma de: (1) peru inteiro (carcaça inteira com miúdos); (2) peito (com ou sem osso e com pele ou sem); (3) coxa; (4) sobrecoxa; (5) coxa e sobrecoxa (*leg quarter*, cujo produto é pouco comercializado); (6) asa; (7) pescoço (sem pele

ou com miúdos); (8) sambiquira (embalados e comercializados a granel); (9) miúdos; (10) pele e (11) carne mecanicamente separada (CMS).

Um dos atributos mais importantes para avaliação da qualidade da carne é a aparência que está relacionada com a decisão de compra e a satisfação final do consumidor, uma vez que a decisão do consumidor para compra é influenciada pela cor, exudação e defeitos (hematomas e hemorragias) (Faustman e Cassens, 1990; Fletcher, 2002; Mancini e Hunt, 2005). A qualidade final da carne, bem como, o preço depende dos atributos de suculência, aroma, sabor, odor, textura e qualidade nutritiva. (Fletcher, 2002).

Em relação à qualidade nutricional, o perfil de ácidos graxos é uma avaliação importante, pois determina a qualidade dos lipídeos presentes na carne. Uma vez que, os consumidores vêm buscando o consumo de alimentos mais saudáveis e com menor risco ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Os ácidos graxos também estão relacionados com os aspectos tecnológicos da qualidade da carne, pois a modificação na sua composição possui efeitos importantes na firmeza, sabor, aroma e na vida de prateleira (Wood et al., 2008).

A oxidação lipídica ou desenvolvimento de *off-flavors* também são indicadores da qualidade da carne e são considerados como umas das principais causas da deterioração. A iniciação da oxidação lipídica ocorre logo após a morte do animal e influencia na cor, sabor, textura e valor nutritivo da carne (Buckley, Morrissey e Gray, 1995; Gray, Goma e Buckley, 1996; Morrissey et al., 1998; Soares et al., 2009).

Dos cortes de peru comercializados somente o peito, asa, coxa com sobrecoxa e pele foram avaliados, nos quais observaram que o conteúdo de proteínas e ácidos graxos poli-insaturados é elevado e o nível de colesterol e lipídios é baixo (Majumdar et al., 2000; Baggio, Vicente e Bragagnolo, 2002). Assim sendo, para aumentar o consumo de carnes de peru há necessidade de aprofundar os conhecimentos sobre a qualidade destas carnes.

Portanto, o objetivo deste estudo foi caracterizar quanto à composição química, física e estabilidade oxidativa os diferentes cortes comerciais de peru, tais como asa, coxa, peito, pele, pescoço e sobrecoxa.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Os cortes comerciais de peru (asa, coxa, peito, pele, pescoço e sobrecoxa, n=6) foram obtidos em uma planta comercial localizada na região sul do Brasil. Os perus de linhagem Nicholas 700 com 140 dias de abate e peso médio de 18 ± 2 kg foram abatidos conforme as práticas padrões da indústria e aprovadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O procedimento de abate consistiu de pendura, atordoamento elétrico, sangria, escalda, depena, evisceração, resfriamento da carcaça no túnel de resfriamento por 6 h a 6°C e desossa. Em seguida, os cortes foram coletados, refrigerados a 4°C e transportados até o laboratório sob refrigeração. Os cortes utilizados para medir a estabilidade oxidativa foram congelados à -18°C e a medida realizada aos 90 dias de armazenamento e os cortes para determinação do perfil de ácidos graxos foram congelados em ultrafreezer a -80°C e as análises realizadas no décimo dia do armazenamento. Para a realização das análises, as peles dos cortes comerciais foram removidas e apenas a carne foi utilizada para a determinação do pH, cor, composição química, perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa.

Os padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos e o 1,1,3,3-Tetraetoxipropano (TEP) foram adquiridos da Sigma Aldrich Co. (St. Louis, EUA). Os demais reagentes utilizados foram de pureza analítica e de diferentes procedências comerciais.

2.2. Medida de pH e Cor

A medida do pH em quintuplicata de todos os cortes foi realizada com pHmetro de contato (Testo 205, Testo AG, Lenzkirch, Germany). Sendo que as peles foram trituradas manualmente e 10 g foram diluídas em 100 mL de água destilada e medido o pH sob agitação.

A medida de cor (L^* , a^* , b^*) foi realizada em todos os cortes e diretamente em 11 pontos diferentes utilizando o colorímetro Minolta CR400 (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan), utilizando iluminante D65. Sendo que para os cortes comerciais de pescoço foi necessário realizar a desossa.

2.3. Determinação da Composição Química

A composição química dos cortes comerciais de peru (asa, coxa, peito, pele, pescoço e sobrecoxa) foi determinada em triplicata conforme descrito na AOAC (2012).

2.4. Determinação do Perfil de Ácidos Graxos

Para determinação do perfil de ácidos graxos os lipídios foram extraídos conforme descrito por Bligh e Dyer (1959). Em seguida, a hidrólise e transesterificação dos ácidos graxos foi realizada conforme o método 5509 da ISO (1978). A separação dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada utilizando o cromatógrafo gasoso (Shimadzu, modelo 17A Gas Chromatograph), equipado com detector de ionização de chamas e coluna capilar (100 m x 0,25 mm) com 0,25 μm de cianopropilpolisiloxano CP SII 88. A rampa de temperatura da coluna foi programada para: 65° C por 15 min; 10° C. min^{-1} até 165° C e mantido por 2 min; 4° C. min^{-1} até 185° C e mantido por 8 min; 4° C. min^{-1} até 235° C e

mantido por 5 min. O detector e o injetor foram mantidos a 260° C. O fluxo do gás de arraste (H₂) foi de 1,2 mL . min⁻¹ , gás auxiliar (N₂) foi de 30 mL . min⁻¹ e para os gases da chama (H₂ e ar sintético) foi de 300 mL . min⁻¹. O padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos foi aplicado para identificação dos ácidos graxos e comparação com as amostras. As áreas dos picos dos ésteres metílicos de ácidos graxos foram determinadas com o integrador (CG-300, CG Instruments, Brazil). Os resultados foram expressos como percentagens relativas dos ácidos graxos identificados.

2.5. Medida da Estabilidade Oxidativa

A medida da estabilidade oxidativa foi determinada pelo índice de TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico), nas amostras armazenadas por 90 dias a -18° C, conforme a metodologia descrita por Tarladgis, Watts e Younathan (1960) e modificada por Crackel et al. (1988). Foram utilizadas 10 g de amostras descongeladas por 12 h a 4° C. Os resultados foram expressos em mg de TBARS/ kg de amostra, em base úmida.

2.6. Análise estatística

Após a análise de variância (ANOVA), utilizando o software Statistica (STATSOFT, 2004) as médias das medidas de pH, cor, composição química, perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa foram comparadas entre os cortes comerciais aplicando o teste de *Tukey* ($p < 0,05$). O coeficiente de correlação de Pearson foi calculado para verificar se houve correlação entre os ácidos graxos poli-insaturados (AGP) de maior percentagem e estabilidade oxidativa.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Avaliação do pH e cor de cortes comerciais de peru

A avaliação do pH em carnes é uma medida preditiva importante da qualidade, pois as suas alterações podem influenciar na cor, capacidade de retenção de água (CRA) e maciez do produto final (Pearson e Young, 1992; Lawrie, 2005). O pH da asa, coxa, peito, pescoço e sobrecoxa não diferiram entre si, cujo valor médio foi de 5,97 (Tabela 1) e diferiram do pH da pele cujo valor foi maior. O pH médio de peitos de peru descrito por Carvalho et al. (2014) foi de 5,73 e similar ao descrito neste estudo (pH = 5,94). Nas aves, a queda do pH durante o processo de glicólise ocorre com maior ou menor acúmulo de ácido lático no músculo, dependendo da reserva energética (glicogênio) e pode haver modificação nas propriedades funcionais (Pietrzak, Greaser e Sosnick, 1997). As carnes de peito de peru com pH menor segundo Pietrzak, Greaser e Sosnick (1997) e Carvalho et al. (2014) apresentaram reduzida CRA e palidez elevada quando comparadas com aquelas que apresentaram pH mais elevado.

O pH da pele de 6,28 foi maior em relação aos outros cortes, provavelmente devido a ausência de ácido lático que é proveniente apenas do processo de glicólise nos músculos e portanto não está presente na pele dos animais ou à água adicionada à pele para medida do pH.

O valor de L* da pele de peru foi maior (75,63) entre os diferentes cortes (Tabela 1) e indica que a pele é mais clara, o que pode ser característico da linhagem dos perus utilizados neste estudo ou da temperatura em que foi realizada a etapa de escalda durante o processo de abate. O valor de L* da asa e peito não diferiu entre si cujo valor médio foi de 52,62 e maior do que o valor de L* do pescoço (49,63). O valor de L* da coxa e sobrecoxa também não diferiram entre si, cujo valor médio foi menor (42,33) em relação aos outros cortes e indica

que as coxas e sobrecoxas são mais escuras. O peito de peru é mais claro devido há maior proporção de fibras brancas, enquanto que na coxa e sobrecoxa possui menor proporção de fibras brancas e maior de fibras vermelhas (Barbut, 2002).

O maior valor de a^* (Tabela 1) foi observado no pescoço e sobrecoxa que não diferiram entre si, sendo que a coxa não apresentou diferença da sobrecoxa e indica que o pescoço, sobrecoxa e coxa possuem maior intensidade de cor vermelha e são mais escuras, conforme observado pelo valor de L^* . Segundo Barbut (2002) quando há maior proporção de fibras vermelhas no músculo indica que há mais mioglobina. Froning, Daddario e Hartung (1968) também observaram que as carnes mais escuras de peru, ou seja, com menor valor de L^* apresentaram maior intensidade de cor vermelha. A cor vermelha da carne é devido ao pigmento mioglobina encontrado no tecido muscular. A mioglobina possui a porção proteica denominada de globina e a não proteica denominada de anel heme. O anel possui um átomo de ferro, localizado no centro, que pode estar tanto na forma reduzida quanto na oxidada, o que determinará a cor da carne (Barbut, 2002; Mancini e Hunt, 2005). A cor vermelha mais intensa do pescoço, coxa e sobrecoxa possivelmente foi devido à presença de mioglobina em maior quantidade ou a associação da mioglobina com o oxigênio durante a exposição dos cortes que ocasionaram a formação de oximioglobina (cor vermelho brilhante). Segundo Mancini e Hunt (2005) na formação da oximioglobina não ocorre alteração na valência do ferro. O valor de a^* da asa e pele não diferiu entre si cujo valor médio foi de 9,55. O menor valor de a^* foi observado no peito ($a^*= 4,00$) e indica que este corte possui a menor intensidade de cor vermelha ($L^*= 52,63$) e, portanto, menos mioglobina, o que é característico de músculos que possuem maior proporção de fibras brancas em sua composição (Barbut, 2002).

O valor de b^* da pele, pescoço e sobrecoxa não diferiram entre si cujo valor médio foi de 10,00 e indica que estes cortes possuem maior intensidade da cor amarela. O valor de b^* da

sobrecoxa também não diferiu da asa e coxa. A cor amarela mais intensa destes cortes, possivelmente ocorreu devido à maior deposição de pigmentos provenientes da alimentação dos animais (Toyomizu et al., 2010). O menor valor de b^* foi observado no peito de peru ($b^*= 3,94$) e indica que este corte possui menor intensidade de cor amarela. O mesmo também foi observado por Allen et al. (1998) em peito de aves com valor de b^* de 4,60.

3.2. Caracterização química dos cortes comerciais de peru

Os cortes comerciais de peru são comercializados de diversas formas e podem apresentar diferenças nas suas características químicas e nutricionais. A composição química dos cortes comerciais de asa, coxa, peito, pele, pescoço e sobrecoxa de peru apresentou características distintas (Tabela 2).

O conteúdo de umidade foi maior para o pescoço (76,13 %) sendo que a coxa, pele e sobrecoxa não diferiram entre si ($p>0,05$) cujo conteúdo médio foi de 74,54%. O conteúdo de umidade no peito e asa foi menor e não diferiram entre si com valor médio de 73,00%. Os cortes de frango (asa, coxa, peito e sobrecoxa) descrito por Kumar e Rani (2014) e Jeong et al. (2011) apresentaram o conteúdo de umidade similar aos descritos neste trabalho.

Os conteúdos de cinzas (Tabela 2) da coxa, peito e sobrecoxa foram maiores e não diferiram entre si ($p<0,05$) cujo valor médio foi de 1,12%. O conteúdo de cinzas de asa, pescoço e pele foram menores e diferiram entre si. O conteúdo de cinzas da coxa e sobrecoxa de peru foram similares às coxas e sobrecoxas de frango descritos por Hautrive, Marques e Kubota (2012).

O conteúdo de lipídios é um assunto de preocupação constante quando se refere ao consumo de carnes (Pereira e Vicente, 2013). O conteúdo de lipídios na pele de peru foi de $15,28 \pm 0,56\%$ e maior entre os cortes comerciais. Baggio, Vicente e Bragagnolo (2002)

também descreveram alto conteúdo de lipídios em pele de peru ($12,00 \pm 3,00\%$). Destaca-se que a pele de peru com maior conteúdo de lipídios e menor conteúdo de proteínas e cinzas pode ser menos atrativa do ponto de vista nutricional para aos consumidores. Entretanto, o conteúdo de lipídios da coxa, pescoço e sobrecoxa não diferiram entre si apresentando conteúdo médio de 3,73%, seguido do conteúdo de lipídios da asa (2,44%). Observa-se que entre os cortes comerciais de peru, o peito apresentou o menor conteúdo de lipídios com 1,53% e representa apenas 10% do conteúdo de lipídios da pele. Estes resultados estão de acordo com Baggio, Vicente e Bragagnolo (2002) que também relataram menor conteúdo de lipídios no peito de peru (0,50%) em relação à asa, pele, coxa e sobrecoxa. Considerando que o peito apresenta baixo conteúdo de lipídeos e elevado conteúdo de proteína e cinzas este pode ser uma opção de consumo quando visa o aspecto nutricional.

O conteúdo de proteína da asa e do peito de peru não diferiram entre si cujo conteúdo médio foi de 24,39%. O conteúdo de proteína no peito de aves variou entre 22,6 e 24,7% conforme descrito por Smith et al. (1993), Ding, Xu e Chan (1999) e Qiao et al. (2002). O conteúdo de proteína da sobrecoxa foi menor e de 20,84%, seguido da coxa e pescoço que não diferiram entre si e apresentaram conteúdo médio de 19,09%. O menor conteúdo de proteína foi observado na pele cujo valor foi de 9,94%.

3.3. Perfil de ácidos graxos dos cortes comerciais de peru

A proporção dos ácidos graxos nos cortes comerciais de peru (Tabela 3) foi elevada para o C18:2n-6 (ácido linoleico), C18:1n-9 (ácido oleico) e C16:0 (ácido palmítico).

As proporções dos ácidos graxos C18:2n-6 (ácido linoleico) de todos os cortes comerciais de peru não diferiram entre si com média de 31,01%. Estes resultados estão de acordo com Baggio, Vicente e Bragagnolo (2002) que observaram elevado conteúdo de ácido

linoleico em asa, peito, pele e coxa com sobrecoxa de peru. Esse ácido graxo é essencial para os humanos, pois exerce uma função importante na manutenção da saúde e devem ser obtidos a partir da dieta (Choque et al., 2014). Este ácido graxo também está relacionado à redução dos níveis séricos de LDL (lipoproteínas de baixa densidade) (Lima et al., 2000).

A proporção do C18:1n-9 (ácido oleico) nos diferentes cortes comerciais de peru foi maior na pele (35,711%) enquanto que a coxa, pescoço, sobrecoxa, peito e asa não diferiram entre si cujo valor médio foi de 29,88%. Elevado conteúdo de ácido oleico em pele de peru também foi observado por Baggio, Vicente e Bragagnolo (2002). Destaca-se que na pele de peru a proporção de C18:1n-9 (ácido oleico) foi maior e C18:0 (ácido esteárico) foi menor. Segundo Wood et al. (2008) o C18:1n-9 (ácido oleico) é predominante em lipídios neutros e são encontrados principalmente em tecidos adiposos, como a pele. O ácido graxo C18:1n-9 (ácido oleico) é formado a partir do C18:0 (ácido esteárico) pela ação da principal enzima lipogênica.

A proporção do C16:0 (ácido palmítico) foi maior para a sobrecoxa (23,568%), enquanto que coxa, pele, pescoço, peito e asa não diferiram entre si cujo valor médio foi de 20,63%. Esses resultados diferiram de Baggio, Vicente e Bragagnolo (2002) que observaram maior conteúdo de C16:0 (ácido palmítico) na pele de peru que diferiram com o peito, asa e coxa com sobrecoxa e com conteúdos similares.

A proporção do C20:4n-6 (ácido araquidônico) no peito e asa foi maior e não diferiu entre si, com valor médio de 2,89%. Enquanto que a proporção do C20:4n-6 (ácido araquidônico) na asa não diferiu da sobrecoxa, coxa e pescoço com valor médio de 2,18%. Sendo que a menor proporção foi observada na pele de peru (0,545%). Porém, Baggio, Vicente e Bragagnolo (2002) identificaram maior conteúdo do C20:4n-6 (ácido araquidônico) em asa, coxa com sobrecoxa, peito e pele de peru.

A proporção total dos ácidos graxos saturados (AGS) foi de 25,158% na pele e de 32,956% na sobrecoxa. Observa-se que a proporção do C16:0 (ácido palmítico) foi maior entre todos os cortes comerciais de peru, seguido pelo C18:0 (ácido esteárico).

A proporção total dos ácidos graxos monoinsaturados (AGM) foi de 31,879% no peito e de 40,298% na pele. Observa-se a predominância da proporção do C18:1n-9 (ácido oleico) seguido pelo C16:1n-7 (ácido palmitoleico) para todos os cortes comerciais de peru.

A proporção total dos ácidos graxos poli-insaturados (AGP) foi similar na sobrecoxa e pele com proporções respectivas de 34,248% e 34,322%, enquanto que a proporção no peito foi de 38,544%. Destaca-se que o C18:2n-6 (ácido linoleico) e C18:3n-3 (ácido α -linolênico) contribuíram com a maior proporção de AGP.

A relação AGP/AGS indica a qualidade dos lipídios e quanto maior esta relação melhor é a qualidade dos lipídios devido ao maior teor de AGP. De todos os cortes comerciais de peru a relação de AGP/AGS (Tabela 3) foi maior para o peito (1,209) e menor para a pele (0,852) e indica que a qualidade do lipídio do peito é boa embora o conteúdo de lipídios seja baixo. Todos os cortes comerciais de peru apresentaram relação de AGP/AGS acima de 0,852. Contudo, a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO, 2010) recomenda que esta relação seja acima de 0,4, pois uma alta ingestão de AGS acarreta o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A relação AGP/AGS na pele foi menor (0,852) entre todos os cortes comerciais de peru. Porém, de acordo com Baggio, Vicente e Bragagnolo (2002) a pele de peru possui elevado nível de colesterol (81 mg/100g) em relação à asa, coxa, sobrecoxa e peito e portanto recomenda restringir o consumo. A principal classe lipídica em tecidos gordurosos, como a pele, é de triacilglicerol ou lipídios neutros enquanto que nos músculos, há uma proporção significativa de fosfolipídios que possuem um conteúdo mais elevado de AGP (Wood et al., 2008).

Os AGP podem ser divididos em duas famílias denominadas ômega 3 (n-3) e ômega 6 (n-6). Esses ácidos graxos são essenciais na dieta humana e a sua importância está relacionada com o controle de várias funções biológicas, tais como pressão arterial do sangue e sistema nervoso (Patterson et al., 2012). Estes AGP são principalmente encontrados nos fosfolipídios e também foram detectados nos lipídios neutros de tecidos adiposos dos animais (Enser et al., 2000; Cooper et al., 2004). Na Tabela 3 observa-se que a maior percentagem total de n-6 (35,93%) e n-3 (2,61%) encontra-se no peito em relação aos demais cortes.

A relação n6/n3 para a pele foi de 18,86, indicando que n-6 é elevado em relação ao n-3. Entretanto, a relação n6/n3 foi próxima de 15 para a coxa, pescoço, sobrecoxa, peito e asa e similar ao descrito por Li et al. (1998). De acordo com Simopoulos (2000) a relação entre n-6 e n-3 na dieta deve ser equilibrada e próxima a 1. Assim, os cortes de asa, coxa, peito, pescoço e sobrecoxa de peru com proporções elevadas de n-6 em sua composição devem ser complementadas com outros componentes ricos em n-3 para manter a relação n-6/n-3 equivalente na dieta, conforme destacado por Simopoulos (2000).

3.4. Estabilidade Oxidativa dos Cortes Comerciais de Peru

A oxidação lipídica é um indicador da qualidade dos alimentos e em especial das carnes. É considerada uma reação espontânea de deterioração que resulta frequentemente no desenvolvimento da rancidez e produção de compostos responsáveis pelos *off flavors* nos alimentos (Gray, Goma e Buckley, 1996). A validade de cortes comerciais de peru quando congelados a -18°C é de nove meses (FDA, 2016). Assim, a estabilidade oxidativa dos diferentes cortes comerciais de peru armazenados a -18°C por 90 dias foi avaliada pela medida da oxidação lipídica (TBARS).

Na Figura 1 observa-se que a maior oxidação lipídica ocorreu na pele (2,42 mg de TBARS/kg de amostra) seguida do pescoço (1,911 mg de TBARS/kg de amostra), asa (0,663 mg de TBARS/kg de amostra), sobrecoxa (0,612 mg de TBARS/Kg de amostra), coxa (0,45 mg de TBARS/kg de amostra) e por último o peito (0,181 mg de TBARS/kg de amostra). A elevada oxidação lipídica na pele está associada com o maior conteúdo de lipídios (Tabela 2), enquanto que a menor oxidação lipídica ocorreu no peito cujo conteúdo de lipídios foi menor (Figura 1, Tabela 2) em relação aos demais cortes comerciais de peru.

A correlação entre a oxidação lipídica e o conteúdo de lipídios em todos os cortes comerciais de peru foi positiva e significativa (0,80; $p < 0,05$) e indica que os cortes com maior conteúdo de lipídios apresentaram menor estabilidade oxidativa, como por exemplo, a pele. A correlação significativa entre o conteúdo de lipídios e o nível de oxidação lipídica em diferentes produtos cárneos foi descrita por Estévez, Morcuende e Cava (2003), Estévez, Ventanas e Cava (2005), Ventanas et al. (2008) e Fuentes et al. (2010). A oxidação lipídica no pescoço foi elevada (1,911 mg de TBARS/kg de amostra) (Figura 1), embora o conteúdo de lipídios do pescoço, sobrecoxa e coxa foram baixos (Tabela 2) em relação aos demais cortes. Porém, o conteúdo de umidade no pescoço foi o mais elevado entre os cortes comerciais de peru que possivelmente favoreceu a oxidação lipídica, conforme descrito por Van Laack et al. (1994) e Den Hertog-Meischke, Van Laack e Smulders (1997).

O peito apresentou a maior proporção de AGP (Tabela 3), no entanto, foi o corte que apresentou maior estabilidade oxidativa (Figura 1) e indica que não houve uma correlação direta entre a proporção de AGP e oxidação lipídica. Foi observada que a correlação de Pearson entre os AGP de maior percentagem e estabilidade oxidativa não foi significativa ($p > 0,05$). Destaca-se que a oxidação dos AGP depende de fatores como o tamanho da cadeia carbônica, grau e posição da insaturação, além da presença de luz, oxigênio, calor e pró-oxidantes (íons metálicos) (Frankel, 1996; Mercier et al., 2001; Gandemer, 2002).

4. CONCLUSÃO

Dos cortes comerciais de perus, o peito apresentou maior conteúdo de proteínas, cinzas, AGP, ômega 3 e ômega 6 e maior estabilidade oxidativa. Enquanto que a coxa, sobrecoxa, asa e pescoço apresentaram características similares de composição química, pH, cor e perfil de ácidos graxo. A pele apresentou menor conteúdo de proteínas, cinzas, AGP, ômega 3 e ômega 6 e menor estabilidade oxidativa. Destaca-se que entre os cortes comerciais de peru, a asa, peito e sobrecoxa apresentaram elevado conteúdo de proteínas e relação AGP/AGS, portanto recomenda-se o seu consumo.

REFERÊNCIAS

- ABPA- Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual 2016**. São Paulo: ABPA, 2016. 133 p.
- ALLEN, C.D.; FLETCHER, D.L.; NORTHCUTT, J.K.; RUSSEL, S.M. The Relationship of Broiler Breast Color to Meat Quality and Shelf-Life. **Poultry Science**, v. 77, p. 361-366, 1998.
- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 19th ed. Maryland, United States: Association of Official Analytical Chemists, 2012.
- BAGGIO, S.R.; VICENTE, E.; BRAGAGNOLO, N. Cholesterol oxides, cholesterol, total lipid, and fatty acid composition in turkey meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5981-5986, 2002.
- BARBUT, S. **Poultry products processing: An industry guide**. 1 ed. Florida: CRC Press. 2002.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Journal of Biochemistry Physiology**, v. 31, p. 911-917, 1959.
- BUCKLEY, D. J.; MORRISSEY, P. A.; GRAY, J. I. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3122–3130, 1995.
- CARVALHO, R.H.; SOARES, A.L.; HONORATO, D.C.B.; GUARNIERI, P.D.; PEDROSO, M.R.; PAIÃO, F.G.; OBA, A.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. 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 and Technology**, v. 59, p. 883-888, 2014.

CHOQUE, B.; CATHELIN, D.; RIOUX, V.; LEGRAND, P. Linoleic acid: Between doubts and certainties. **Biochimie**, v. 96, p. 14-21, 2014.

COOPER, S. L.; SINCLAIR, L. A.; WILKINSON, R. G.; HALLETT, K. G.; ENSER, M.; WOOD, J. D. Manipulation of the n - 3 polyunsaturated acid content of muscle and adipose tissue in lambs. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 1461–1470, 2004.

CRACKEL, R. L.; GRAY, J. I.; BOOREN, A. M.; BUCKELY, D. J. Effect of antioxidants on lipid stability in restructured beef steaks. **Journal of Food Science**, v.53, p.656-657, 1988.

DEN HERTOOG-MEISCHKE, M.J.A.; VAN LAACK, R.J.L.M; SMULDERS, F.J.M. The water-holding capacity of fresh meat. **Veterinary Quarterly**, v. 19, p. 175-181, 1997.

DING, H.; XU, R. J.; CHAN, D.K.O. Identification of broiler chicken meat using a visible/near-infrared spectroscopic technique. **Journal of Science Food Agriculture**, v. 79, p. 1382–1388, 1999.

ENSER, M.; RICHARDSON, R. I.; WOOD, J. D.; GILL, B. P.; SHEARD, P. R. Feeding linseed to increase the n-3 PUFA of pork: fatty acid composition of muscle, adipose tissue, liver and sausages. **Meat Science**, v. 55, p. 201–212, 2000.

ESTÉVEZ, M.; MORCUENDE, D.; CAVA, R. Oxidative and colour changes in meat from free-range reared Iberian pigs slaughtered at 90 kg live-weight and commercial pig under refrigerated storage. **Meat Science**, v.65, p.1139–1146, 2003.

ESTÉVEZ, M.; VENTANAS, V.; CAVA, R. Physicochemical properties and oxidative stability of liver pâté as affected by fat content. **Food Chemistry**, v. 92, p.449–457, 2005.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação). **Fats and fatty acids in human nutrition**. Roma: FAO, 2010. 180p.

FAUSTMAN, C.; CASSENS, R.G. Basis for fresh meat discoloration. **Journal of Muscle Foods**, v. 1, p. 217-243, 1990.

FDA – U.S. Food and Drug Administration. Refrigerator and freezer storage chart. Disponível em:<

<http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodborneIllnessContaminants/UCM109315.pdf>>.

Acessado em 02 nov. 2016.

FLETCHER, D.L. Poultry meat quality. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, p. 131-145, 2002.

FRANKEL, E.N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food Chemistry**, v. 57, p. 51-55, 1996.

FRONING, G.W.; DADDARIO, J.; HARTUNG, T.E. Color and Myoglobin Concentration in Turkey Meat as Affected by Age, Sex and Strain. **Poultry Science**, v. 47, p. 1827-1835, 1968.

FUENTES, V.; VENTANAS, J.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M.; VENTANAS, S. Lipid and protein oxidation and sensory properties of vacuum-packaged dry-cured ham subjected to high hydrostatic pressure. **Meat Science**, v. 85, p. 506–514, 2010.

GANDEMER, G. Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. **Meat Science**, v. 62, p. 309-321, 2002.

GRAY, J.I.; GOMAA, E.A.; BUCKLEY, D.J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat Science**, v. 43, p. S111-S123, 1996.

HAUTRIVE, T.P.; MARQUES, A.C.; KUBOTA, E.H. Avaliação da composição centesimal, colesterol e perfil de ácidos graxos de cortes cárneos comerciais de avestruz, suíno, bovino e frango. **Revista Alimentos e Nutrição**, v. 23, p. 327-334, 2012.

JEONG, J.Y.; JANARDHANAN, K.K.; BOOREN, A.M.; KARCHER, D.M.; KANG, I. Moisture content, processing yield, and surface color of broiler carcasses chilled by water, air, or evaporative air. **Poultry Science**, v. 90, p. 687-693, 2011.

KUMAR, P.R.; RANI, S.M. Chemical composition of chicken of various commercial brands available in market. **Journal of Agriculture and Veterinary Science**. v.7, p. 22-26, 2014.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. 6. ed. São Paulo: Artmed. 2005.

LI, D.; NG, A.; MANN, N.J.; SINCLAIR, A.J. Contribution of meat fat to dietary arachidonic acid. **Lipids**, v. 33, p. 437-440, 1998.

LIMA, F.E.L.; MENEZES, T.N.; TAVARES, M.P.; SZARFARC, S.C.; FISBERG, R.M. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. **Revista de Nutrição**, v. 13, p. 73-80, 2000.

MAJUMDAR, S.; SINGH, D.P.; BHANJA, S.K ; AGARWAL, S.K. Turkey Farming - A New Venture for the Millennium. **Indian Poultry Science**. Asso. Con. Symp., 12-14 Oct., Chennai, pp. 242-245, 2000.

MANCINI, R.A.; HUNT, M.C. Current research in meat color. **Meat Science**, v. 71, p. 100-121, 2005.

MERCIER, Y.; GATELIER, P.; VINCENT, A.; RENERRE, M. Lipid and protein oxidation in microsomal fraction from turkeys: Influence of dietary fat and vitamin E supplementation. **Meat Science**, v. 58, p. 125–134, 2001.

MINOLTA. **Precise color communication: color control from perception to instrumentation**. Japan, 1998. 59p.

MORRISSEY, P. A.; SHEEHY, P. J. A.; GALVIN, K.; KERRY, J. P.; BUCKLEY, D. J. Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, v. 49, p.S73–S86, 1998.

PATTERSON, E.; WALL, R.; FITZGERALD, G.F.; ROSS, R.P.; STANTON, C. Health Implications of High Dietary Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids. **Journal of Nutrition and Metabolism**, p. 1-16, 2012.

PEARSON, A.M.; YOUNG, R.B. **Muscle and meat biochemistry**. San Diego, CA: Academic Press, 1989, 457 p.

PEREIRA, P.M.C.C. ; VICENTE, A.F.R.B. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. **Meat Science**, v. 93, p. 586-592, 2013.

PIETRZAK, M.; GREASER, M.L.; SOSNICK, A.A. Effect of Rapid Rigor Mortis Processes on Protein Functionality in Pectoralis Major Muscle of Domestic Turkeys. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2106-2116, 1997.

QIAO, M.; FLETCHER, D.L.; NORTH CUTT, J.K.; SMITH, D.P. The relationship between raw broiler breast meat color and composition. **Poultry Science**, v. 81, p. 422–427, 2002.

SIMOPOULOS, A.P. Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. **Poultry Science**, v. 79, p. 961-970, 2000.

SMITH, D. P.; FLETCHER, D.L.; BUHR, R.J.; BEYER, R.S. Pekin duckling and broiler chicken pectoralis muscle structure and composition. **Poultry Science**, v.72, p. 202–208, 1993.

SOARES, A.L.; MARCHI, D.F.; MATSUSHITA, M.; GUARNIERI, P.D.; DROVAL, A.A.; IDA, E.I.; SIMOKOMAKI, M. Lipid oxidation and fattt acid profile related to broiler breast meat color abnormalities. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, p. 1513-1518, 2009.

STATSOFT. Inc. Corporate. **STATISTICA** (data analysis software), version 7. Tulsa, Oklahoma, USA, 2004.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T. A distillation method for the quantitative determination of Malonaldehyde in rancid foods. **The Journal of the American Oil Chemist's Society**, v.37, p. 44-48, 1960.

TOYOMIZU, M.; SATO, K.; TARODA, et al. Effects of dietary Spirulina on meat color in muscle of broiler chickens. **British Poultry Science**, v.42, p.197-202, 2010.

UNECE- United Nations Economic Commission for Europe. (2012). Turkey Meat Carcasses and Parts. Retrieved December 09, 2016 from: http://https://www.unece.org/fileadmin/DAM/trade/agr/standard/meat/e/Turkey__358Rev1_2013.pdf.

USDA - United States Department Of Agriculture. (2015). **FAS databases**.

VAN LAACK, R.L.J.M.; KAUFFMAN, R. G.; SYBESMA, W.; SMULDERS, F.J.M.; EIKELNBOOM, G.; PINHEIRO, J. C. Is colour brightness (L-value) a reliable indicator of water-holding capacity in porcine muscle. **Meat Science**, v. 38, p.193–201, 1994.

VENTANAS, S.; ESTÉVEZ, M.; ANDRÉS, A. I.; RUIZ, J. Analysis of volatile compounds of Iberian dry-cured loins with different intramuscular fat contents using SPME–DED. **Meat Science**, v.79, p.172–180, 2008.

WOOD, J.D.; ENSER, M.; FISHER, A.V.; NUTE, G.R.; SHEARD, P.R.; RICHARDSON, R.I.; HUGHES, S.I.; WHITTINGTON, F.M. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. **Meat Science**, v. 78, p. 343-358, 2008.

FIGURAS

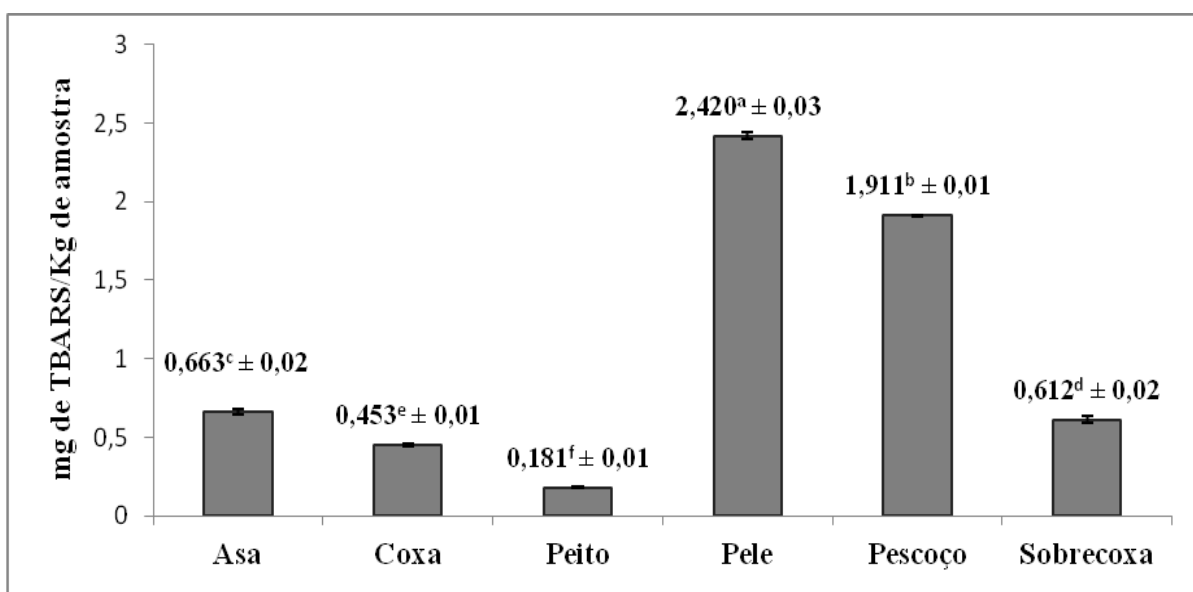


Figura 1. Oxidação lipídica nos cortes comerciais de peru armazenados (-18°C) por 90 dias.

Tabela 1. Características de pH e cor dos cortes comerciais de carnes de peru

Cortes	L*	a*	b*	pH
Asa	52,61 ^b ± 1,92	8,72 ^c ± 2,33	7,71 ^b ± 1,90	5,97 ^b ± 0,07
Coxa	42,24 ^d ± 3,75	15,61 ^b ± 2,89	7,31 ^b ± 1,92	5,98 ^b ± 0,17
Peito	52,63 ^b ± 1,40	4,00 ^d ± 1,08	3,94 ^c ± 1,40	5,94 ^b ± 0,11
Pele	75,63 ^a ± 2,53	10,37 ^c ± 2,70	10,64 ^a ± 1,82	6,28 ^a ± 0,14
Pescoço	49,63 ^c ± 1,44	19,34 ^a ± 2,20	9,98 ^a ± 1,88	5,92 ^b ± 0,06
Sobrecoxa	42,43 ^d ± 2,84	18,31 ^{a,b} ± 2,97	9,35 ^{a,b} ± 2,67	6,05 ^b ± 0,21

^{a,b,c} Médias seguidas por diferentes letras na mesma coluna diferem entre si pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de significância.

Tabela 2. Composição química dos cortes comerciais de peru

Cortes	Umidade (%)	Cinzas (%)	Lipídios (%)	Proteínas (%)
Asa	72,77 ^c ± 0,11	1,06 ^b ± 0,01	2,44 ^c ± 0,42	23,98 ^a ± 0,24
Coxa	74,87 ^b ± 0,29	1,13 ^a ± 0,01	3,77 ^b ± 0,21	19,42 ^c ± 0,40
Peito	73,23 ^c ± 0,20	1,13 ^a ± 0,02	1,53 ^d ± 0,40	24,80 ^a ± 0,10
Pele	74,40 ^b ± 0,11	0,43 ^d ± 0,02	15,28 ^a ± 0,56	9,94 ^d ± 0,63
Pescoço	76,13 ^a ± 0,28	0,86 ^c ± 0,01	3,76 ^b ± 0,17	18,75 ^c ± 0,41
Sobrecoxa	74,36 ^b ± 0,11	1,10 ^{a,b} ± 0,02	3,66 ^b ± 0,28	20,84 ^b ± 0,14

^{a,b,c} Médias seguidas por diferentes letras na mesma coluna diferem entre si pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de significância.

Tabela 3. Perfil de ácidos graxos dos cortes comerciais de peru

ÁCIDO GRAXO	COXA	PELE	PESCOÇO	SOBRECOXA	PEITO	ASA
C12:0 (%)	0,023 ^{ab} ± 0,01	0,018 ^b ± 0,01	0,028 ^{ab} ± 0,01	0,033 ^a ± 0,01	0,024 ^{ab} ± 0,01	0,024 ^{ab} ± 0,01
C14:0 (%)	0,485 ^b ± 0,01	0,480 ^b ± 0,05	0,511 ^b ± 0,03	0,600 ^a ± 0,03	0,488 ^b ± 0,03	0,491 ^b ± 0,01
C16:0 (%)	21,047 ^{b,c} ± 0,55	19,651 ^c ± 1,42	20,128 ^{b,c} ± 0,61	23,568 ^a ± 0,20	20,804 ^{b,c} ± 0,18	21,513 ^b ± 0,49
C16:1n-7 (%)	0,301 ^a ± 0,01	1,268 ^a ± 1,93	0,296 ^a ± 0,02	0,313 ^a ± 0,01	0,278 ^a ± 0,02	0,283 ^a ± 0,01
C16:1n-9 (%)	3,281 ^a ± 0,48	3,319 ^a ± 0,15	3,652 ^a ± 0,24	2,651 ^a ± 0,10	2,178 ^a ± 0,14	3,293 ^a ± 0,19
C17:0 (%)	0,149 ^a ± 0,01	0,077 ^b ± 0,01	0,133 ^a ± 0,01	0,157 ^a ± 0,01	0,144 ^a ± 0,01	0,131 ^a ± 0,01
C18:0 (%)	8,09 ^a ± 0,84	4,870 ^b ± 0,65	7,143 ^a ± 0,65	8,490 ^a ± 0,55	7,688 ^a ± 0,72	7,281 ^a ± 0,49
C18:1n-9 (%)	30,292 ^b ± 0,46	35,711 ^a ± 1,02	30,671 ^b ± 0,66	29,387 ^b ± 0,36	29,423 ^b ± 0,57	29,637 ^b ± 1,08
C18:2n-6 (%)	30,828 ^{ab} ± 0,17	31,642 ^a ± 0,70	31,973 ^a ± 1,22	29,262 ^b ± 0,42	31,276 ^a ± 1,24	31,079 ^{ab} ± 0,56
C18:3n-3 (%)	1,830 ^a ± 0,09	1,728 ^a ± 0,24	1,907 ^a ± 0,23	1,533 ^a ± 0,06	1,850 ^a ± 0,12	1,899 ^a ± 0,17
C18:3n-6 (%)	0,020 ^{ab} ± 0,04	0,056 ^{ab} ± 0,06	0,016 ^b ± 0,03	0,105 ^a ± 0,01	0,032 ^{ab} ± 0,04	0,048 ^{ab} ± 0,03
C20:2n-6 (%)	0,147 ^{b,c} ± 0,02	0,086 ^c ± 0,06	0,196 ^{ab} ± 0,02	0,22 ^a ± 0,02	0,213 ^a ± 0,02	0,167 ^{ab} ± 0,02
C20:3n-3 (%)	0,149 ^a ± 0,05	nd	0,073 ^b ± 0,01	0,129 ^{ab} ± 0,04	0,0906 ^{ab} ± 0,03	0,053 ^b ± 0,01
C20:4n-6 (%)	2,160 ^b ± 0,21	0,545 ^c ± 0,15	2,103 ^b ± 0,51	2,046 ^b ± 0,15	3,338 ^a ± 0,87	2,431 ^{ab} ± 0,52
C22:0 (%)	0,160 ^a ± 0,01	0,062 ^a ± 0,04	0,130 ^a ± 0,04	0,108 ^a ± 0,10	0,157 ^a ± 0,06	0,168 ^a ± 0,05
C22:4n-6 (%)	0,464 ^{ab} ± 0,03	0,265 ^b ± 0,43	0,429 ^{ab} ± 0,04	0,484 ^{ab} ± 0,06	0,790 ^a ± 0,19	0,631 ^{ab} ± 0,16
C22:5n-3 (%)	0,103 ^b ± 0,02	nd	0,103 ^b ± 0,03	0,159 ^b ± 0,02	0,274 ^a ± 0,08	0,172 ^b ± 0,05
C22:5n-6 (%)	nd	nd	nd	0,113 ^{ab} ± 0,02	0,282 ^a ± 0,11	0,083 ^b ± 0,10
C22:6n-3 (%)	0,195 ^b ± 0,04	nd	0,162 ^b ± 0,03	0,197 ^b ± 0,03	0,398 ^a ± 0,11	0,253 ^b ± 0,07
AGS* (%)	29,954	25,158	28,073	32,956	29,305	29,608
AGM** (%)	33,874	40,298	34,619	32,351	31,879	33,213
AGP*** (%)	35,896	34,322	36,962	34,248	38,544	36,816
AGP/AGS	1,060	0,852	1,068	1,059	1,209	1,108
n-3 (%)	2,28	1,73	2,25	2,02	2,61	2,38
n-6 (%)	33,62	32,59	34,72	32,23	35,93	34,44
n-6/n-3	14,76	18,86	15,46	15,97	13,75	14,49

*Ácidos Graxos Saturados; ** Ácidos Graxos Monoinsaturados; *** Ácidos Graxos Poli-insaturados. nd= não identificado.

^{b,c} Médias seguidas por diferentes letras na mesma linha diferem entre si pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de significância.

5.3 Artigo Científico 3:

EXTRAÇÃO E OBTENÇÃO DE ISOLADO DE COLÁGENO DE BARBELAS DE PERU

Foi redigido para posterior submissão ao periódico *Food Chemistry*.

EXTRAÇÃO E OBTENÇÃO DE ISOLADO DE COLÁGENO DE BARBELAS DE PERU

Danielle C. B. Honorato¹, Aryella C. Hoffmann¹; Rafael H. Carvalho ², Adriana L. Soares ¹,
Paulo D. Guarnieri ³, Massami Shimokomaki ² e Elza I. Ida ^{1*}

¹ Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos,
Londrina, PR, Brasil; ² Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Medicina
Veterinária Preventiva, Londrina, PR, Brasil; ³ Universidade de São Paulo, Programa de Pós
Graduação em Ciência de Alimentos, São Paulo, SP, Brasil.

^{1*} Autor correspondente: elida@uel.br

Endereço: Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de
Londrina, Londrina, PR, Brasil, 86057-970.

TEL.: (43) 3371 4080.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar a melhor condição de extração e obtenção do isolado de colágeno (IC) de barbelas de perus e caracterizar o perfil de eletroforese. Foram utilizadas as barbelas limpas (Nicholas 700) e pré-preparadas aplicando o planejamento fatorial completo (2^2) para estabelecer a melhor condição de extração e obtenção de IC, cujas variáveis independentes foram X_1 (pH do ácido acético) e X_2 (percentagem de pepsina) e a função-resposta foi o conteúdo de colágeno. Após estabelecer a melhor condição de extração e obtenção do IC foi calculado o rendimento e grau de purificação e caracterizado o perfil de eletroforese. A melhor condição para extração e obtenção de IC ocorreu quando o pH foi igual a 2,0 e a percentagem de pepsina de 0,05% com rendimento de 25% e grau de purificação de 3,9 vezes. O perfil de eletroforese do IC obtido foi similar ao do colágeno tipo I. A obtenção de IC de barbelas de perus machos é simples e viável para ser executada e pode ser recomendada a indústria para reaproveitar este subproduto para elaboração de um aditivo com múltiplas aplicações.

Palavras-chave: Subproduto; colágeno tipo I; peru; composição química.

1. INTRODUÇÃO

O colágeno é a proteína dominante do tecido conjuntivo nos mamíferos e corresponde a aproximadamente 30% da proteína total (Ricard-Blum, 2011). A estrutura molecular consiste de uma unidade básica denominada de tropocolágeno, o qual é constituído por três cadeias alfa (cadeias polipeptídicas) entrelaçadas que formam uma tripla hélice. As cadeias alfa podem ser idênticas ou podem diferir na sua sequência de aminoácidos, dependendo do tipo de colágeno. Uma cadeia de polipeptídeos comum é constituída por uma sequência de

(Glicina-X-Y)_n repetida ao longo da cadeia, onde as posições X são frequentemente ocupadas por prolina e o Y, hidroxiprolina ou hidroxilisina (Gelse, Poschl e Aigner, 2003). Dos colágenos existentes, têm sido identificados pelo menos 28 tipos e cada um difere em sua estrutura molecular, sequência de aminoácidos e função (Ricard-Blum, 2011). O colágeno tipo I é o colágeno mais abundante no organismo e é encontrado principalmente na pele, ossos, tendões e ligamentos de mamíferos (Olivo e Shimokomaki, 2001; Gelse, Poschl e Aigner, 2003). E a segunda forma mais abundante desta proteína é o colágeno tipo III, o qual é amplamente distribuído em tecidos que contém o colágeno tipo I, com exceção dos ossos (Bailey e Light, 1989; Gelse, Poschl e Aigner, 2003).

Tradicionalmente, as principais fontes comerciais de extração e isolamento do colágeno têm sido a pele de bovinos e suínos. No entanto a extração de colágeno a partir de diferentes fontes animais vem sendo intensamente investigada com potencial para obtenção do isolado (Nalinanon et al., 2011; Simões et al., 2014; Thuy, Okazaki e Osako, 2014; Liu et al., 2015; Mohammadi et al., 2016; Zhou et al., 2016). A distribuição da massa molar, estrutura e composição dos colágenos dependem das condições utilizadas na extração e da fonte de matéria-prima (Ricard-Blum, 2011). Assim sendo, para cada tipo de matéria-prima, é necessário determinar as melhores condições do processo de extração e obtenção do isolado de colágeno com as características desejadas (Schmidt et al., 2016). Para extração de colágeno de diferentes tecidos animais, geralmente são utilizados ácidos orgânicos, como o ácido acético, seguido de hidrólise com enzima proteolítica, como a pepsina (Bailey et al., 1979; Alves e Prudêncio-Ferreira, 2002; Sadowska, Koodziejska e Niecikowska, 2003; Wang et al., 2008; Woo et al., 2008; Yan et al., 2008; Benjakul et al., 2010; Nalinanon et al., 2011; Shon, Hwang e Eun, 2011).

As barbelas de peru na maioria das vezes são designadas como subprodutos do abate e descartadas junto com a cabeça, as quais têm como destino a graxaria. Este possível

subproduto, são tuberosidades carnosas localizadas no pescoço do peru e podem ter coloração vermelha ou cinza, a qual se desenvolve em resposta aos hormônios masculinos. Em situação de animação, medo, raiva, alerta ou quando ocorrem alterações de humor, as barbelas podem mudar temporariamente de cor (Baratti et al., 2010). A outra função das barbelas é a sua propriedade termorregulatória, ou seja, auxiliam na homeostase dos animais (Buchholz, 1996). Ainda não há publicações que relatem maiores características sobre as barbelas de peru, no entanto, sabe-se que há grande quantidade de tecido conjuntivo nestas tuberosidades. Assim, a extração e obtenção de isolado de colágeno de barbelas de peru pode ser uma alternativa efetiva para agregar valor a este subproduto e também, ampliar a fonte de extração e obtenção do isolado de colágeno. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de carne de peru e, portanto as barbelas podem ser um subproduto de importância econômica. Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar a melhor condição de extração e obtenção do isolado de colágeno (IC) de barbelas de perus e caracterizar o perfil de eletroforese.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

As barbelas de perus machos e fêmeas foram obtidas em uma planta comercial localizada na região sul do Brasil. Os perus (linhagem Nicholas 700, com 140 dias de abate e peso médio de 18 ± 2 kg) foram abatidos conforme as práticas da indústria e aprovadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). As barbelas foram coletadas, refrigeradas a 4°C e transportadas até o laboratório sob-refrigeração, onde foram lavadas com água destilada e armazenadas a -18°C até o momento das análises.

A pepsina e o padrão de colágeno tipo I foram adquiridos da Sigma Aldrich Co. (St. Louis, EUA), o padrão de hidroxiprolina da Acrós Organics (Thermo Fisher, EUA) e o marcador de peso molecular da Invitrogen (Novex, Thermo Fisher, EUA). Os outros reagentes foram de pureza analítica e de diferentes procedências comerciais.

2.2. Caracterização Química e Determinação do Conteúdo de Colágeno

As barbelas de perus machos (2 kg) e fêmeas (2 kg) abatidos com 140 dias foram amostradas aleatoriamente e caracterizadas quanto à composição química conforme descrito na AOAC (2012). O conteúdo de colágeno foi determinado pelo teor do aminoácido hidroxiprolina conforme a metodologia descrita por Woessner (1961) cujo resultado foi multiplicado por 8,0 conforme Kolar (1990). Os resultados foram expressos em g de colágeno em 100 g de amostra. A composição química e o conteúdo de colágeno dos perus machos e fêmeas foram comparados entre si aplicando o teste de *Tukey* ao nível de 5% de significância.

2.3. Preparo das Barbelas de Peru

Após descongelamento das barbelas de perus machos por 12 h a 4°C, estas foram estendidas e cortadas manualmente em pedaços uniformes com 1,0 cm de comprimento e 1,0 cm de largura (Figura 1). As barbelas foram previamente tratadas conforme procedimento descrito por Shimokomaki (1980). No procedimento, os pedaços de barbelas foram imersos em água destilada na proporção de 1:10 (m/v) e agitados em incubadora refrigerada (TE 421, Tecnal, Brasil) a 4°C por 48 h, com troca diária da água destilada. Os compostos não fibrilares foram removidos pela substituição da água destilada por solução de 0,05 mol L⁻¹ de Tris-base contendo 1,0 mol L⁻¹ de NaCl (pH 7,5) na proporção de 1:10 (m/v) sob agitação em

incubadora refrigerada a 4°C por 48 h, com troca diária da solução. Após este período a solução foi removida e a barbeta utilizada para extração e obtenção do IC.

2.4. Extração e Obtenção de Isolado de Colágeno (IC) de barbeta de peru

Para estabelecer a melhor condição de extração e obtenção de IC de barbeta de peru foi aplicado o planejamento fatorial completo (2^2) com três repetições no ponto central, totalizando 7 ensaios que foram realizados aleatoriamente (Tabela 2). As variáveis investigadas foram X_1 (pH do ácido acético) e X_2 (% de pepsina). Os tempos de ação do ácido acético e da pepsina utilizados para a extração e obtenção do IC foram estabelecidos conforme ensaios preliminares. Estes ensaios indicaram que o tempo de ação do ácido acético não influenciou na extração e obtenção de IC e o tempo estabelecido para a ação da pepsina foi de 12 h de agitação.

Assim, as barbeltas de perus limpas e pré-preparadas foram submetidas ao processo de extração com ácido acético na proporção de 1:10 (m/v), cuja variável foi o pH ou seja X_1 (2,0; 2,5 e 3,0) e sem agitação. Ao final do tratamento com ácido acético e respectivo pH, a mistura foi homogeneizada em turrax por 10 min a 16.000 rpm. Em seguida, a variável X_2 , ou seja, percentagem de pepsina (0,05%; 0,25% e 0,45%) em relação ao homogenato foi adicionada e a mistura mantida sob agitação (TE 421, Tecnal, Brasil) por 12 h a 4°C. Após a hidrólise com pepsina, o pH do material foi ajustado para 7,5 utilizando $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH ou $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl e centrifugado a $10.000 \times g$ por 30 min a 4°C. O precipitado (P_1) foi descartado e o sobrenadante (S_1) contendo o material colagenoso foi submetido à precipitação salina com $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl e novamente centrifugado a $10.000 \times g$ por 30 min a 4°C. O sobrenadante (S_2) foi descartado e o precipitado (P_2) foi dialisado em solução de ácido acético $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por 72 h a 4°C, com troca diária da solução. Em seguida o precipitado foi liofilizado (Alpha

Christ, Osterode AM Harz, Alemanha) e denominado de isolado de colágeno (IC) que foi utilizado para determinação da função resposta Y_1 (g de colágeno em 100 g de IC). A equação do modelo proposto foi: $Y_1 = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + e$ (Equação 1), onde: Y_1 = função-resposta; x_1, x_2 = variáveis codificadas; β = coeficientes estimados para cada termo; e = resíduo.

A partir da determinação da função-resposta (Y_1) foi realizada a análise de regressão, análise de variância (ANOVA), construção dos gráficos de superfície de resposta e de desejabilidade utilizando o programa STATISTICA 7.0 (StatSoft, 2004).

2.4.4. Validação do modelo

A validação do modelo proposto foi realizada em duplicata a partir da melhor condição para obter o IC de barbelas de peru com maior conteúdo de colágeno. Os resultados foram comparados com os estimados pelo modelo aplicando o teste t de *Student* ao nível de 5%.

2.5. Rendimento e grau de purificação do IC

O rendimento e o grau de purificação do IC de barbelas de peru foram determinados conforme descrito por Simões et al. (2014). Sendo que a % de rendimento foi calculada pela relação entre a massa (g) de IC obtida e a massa (g) de barbela de peru utilizada multiplicado por 100. O grau de purificação foi calculado pela relação entre o conteúdo de colágeno do IC (g de colágeno em 100 g de IC) e da barbela de peru (g de colágeno em 100 g de barbela de peru).

2.6. Eletroforese

Após a validação do modelo foi obtido o IC de barbelas de peru e realizado a eletroforese utilizando dodecil sulfato de sódio em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). As amostras foram preparadas de acordo com Shimokomaki et al. (1980) e Tanaka e Shimokomaki (1996) com algumas modificações. Foram pesados 12 mg do IC e adicionado 1 mL de SDS 2%. Em seguida, foi adicionado 1 mL de tampão da amostra contendo 20% de glicerol; Tris-HCl 0,5 M pH 6,8; 20% de SDS a 10% e 5% de β -mercaptoetanol. Para o gel de concentração e separação foram utilizados 4% e 8% de poliacrilamida, respectivamente.

A amostra foi mantida a 60°C por 30 min em banho-maria, resfriada e 10 μ L foram aplicados no gel de poliacrilamida. Em paralelo a amostra foram aplicados 10 μ L de marcador de peso molecular (10 – 220 kDa) e 10 μ L de padrão de colágeno Tipo I de cauda de rato (diluído em tampão de amostra 1:1 v/v). As condições da eletroforese foram 100 V, 25 mA e 5 W por 2 h. Após a corrida, os géis foram corados em Comassie Brilhante G-250 (0,01 g) dissolvido em água destilada, metanol e ácido acético na proporção de 5:4:1 (v/v/v). Em seguida foram descorados com solução de água, metanol e ácido acético na proporção de 5:4:1 (v/v/v). O perfil de eletroforese foi registrado utilizando o fotodocumentador (sistema KODAK Electrophoresis Documentation and Analysis System 290).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Composição química e conteúdo de colágeno de barbelas de peru

A composição química de barbelas de perus machos e fêmeas apresentaram diferenças significativas no conteúdo de umidade e proteínas (Tabela 1). Sendo que as barbelas de perus machos apresentaram menor conteúdo de umidade e maior conteúdo de proteína. O conteúdo

de umidade e proteína de barbelas de perus machos e fêmeas estão próximos ao de outras matérias-primas utilizadas para a extração e obtenção de IC (Liu, Lin e Chen, 2001; Simões et al., 2014).

O conteúdo de lipídeos e cinzas de barbelas de perus machos e fêmeas não apresentaram diferenças significativas, cujos valores médios foram de $0,89 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ e $0,41 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$, respectivamente.

O conteúdo de colágeno de barbelas de perus machos e fêmeas apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) sendo que os perus machos apresentaram um conteúdo maior e de 44% em relação às barbelas de perus fêmeas. Pines et al. (1996) também observaram que o conteúdo de colágeno de peles de frangos machos foi maior quando comparado com as fêmeas. Segundo Bailey e Light (1989) e Balian e Bowes (1977), os conteúdos de colágeno de pele, tendões, ossos e estômagos de mamíferos variaram entre $15 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ e $95 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ de amostra.

Considerando que as barbelas de perus machos apresentaram maior conteúdo de colágeno e proteínas, estas foram utilizados como matéria-prima para extração e obtenção de IC.

3.4. Avaliação das condições do processo de extração e obtenção de IC de barbelas de peru

Analisando os coeficientes de regressão (Tabela 3) observou-se que a variável X_1 (pH do ácido acético) apresentou efeito negativo e significativo ($p < 0,05$) sobre a função resposta Y_1 (g de colágeno em 100 g de IC). Estes resultados indicaram que quanto menor o valor de X_1 (pH do ácido acético) maior será a função resposta (Y_1). Assim, observa-se (Tabela 2) que quando $x_1 = -1$ (pH=2,0) (Ensaio 1 e 3), o Y_1 é maior, ou seja, $Y_1 = 83,22 \pm 1,01$ g de colágeno em 100 g de IC e $Y_1 = 85,10 \pm 0,90$ g de colágeno em 100 g de IC, respectivamente.

Entretanto, o efeito da variável X_2 e a interação $X_1 * X_2$ sobre a função resposta (Y_1) não foram significativos ao nível de 5%.

A ANOVA (Tabela 4) indicou que o modelo proposto foi significativo com coeficiente de determinação ($R^2 = 81,13\%$) indicando que houve um bom ajuste do modelo aos dados experimentais e, portanto, pode ser utilizado com finalidade preditiva para extração e obtenção de IC de barbelas de peru. Embora, a variável X_2 e a interação $X_1 * X_2$ não foram significativas, estas não foram excluídas do modelo devido à elevada contribuição destas variáveis ($R^2 = 81,13\%$). Assim sendo, o modelo foi descrito como: $Y_1 = 71,43571 - 9,70250 x_1 + 1,91250 x_2 + 0,97250 x_1 * x_2$ (Equação 2), onde $Y_1 =$ g de colágeno em 100 g de IC; $x_1 =$ pH do ácido acético e $x_2 =$ % de pepsina.

A partir do modelo e simulando a condição de menor nível de x_1 (-1) e maior nível de x_2 (+1) observa-se que Y_1 será igual a 82,08 g de colágeno em 100 g de IC, cujo resultado não diferiu do ensaio 3 ($85,10 \pm 0,90$ g de colágeno em 100 g de IC), onde se observou maior valor de Y_1 . Observa-se também que este resultado (também não diferiu do ensaio 1 ($83,22 \pm 1,01$ g de colágeno em 100 g de IC) onde há o menor nível de $x_1 = -1$ e $x_2 = -1$.

Pela superfície de resposta (Figura 2) confirma-se que há uma região onde se pode obter Y_1 acima de 80 g de colágeno em 100 g de IC quando o pH foi igual a 2,0 ($x_1 = -1$) e % de pepsina foi de 0,05% ($x_2 = -1$) ou 0,45% ($x_2 = +1$), ou seja, $Y_1 = 83,22 \pm 1,01$ g de colágeno em 100 g de IC (pH=-1, % de pepsina=-1) e $Y_1 = 85,10 \pm 0,90$ g de colágeno em 100 g de IC (pH= -1, % de pepsina= +1). Os parâmetros de desejabilidade (Figura 3) indicaram que a máxima extração de colágeno de barbelas de peru ($Y_1 = 82,08$ g de colágeno em 100 g de IC) ocorreu quando $x_1 = -1$ ou pH igual a 2,0 e X_2 em qualquer concentração de pepsina (0,05%; 0,25% ou 0,45%). Entretanto, visando à extração e obtenção de IC de barbelas de peru com menor custo, recomenda-se utilizar a menor concentração de pepsina, ou seja, quando $x_2 = -1$ ou $X_2 = 0,05\%$ de pepsina. Portanto, a melhor condição de extração e obtenção de IC de

barbelas de peru macho foi quando aplicou o menor nível de x_1 e x_2 , ou seja, pH igual a 2,0 e percentagem de pepsina igual a 0,05%.

3.5. Validação do modelo

A melhor condição para obter IC com maior conteúdo de colágeno ($Y_1 = 83,22 \pm 1,01$ g de colágeno em 100 g de IC) ocorreu quando se aplicou o menor nível, ou seja, o ensaio 1 ($x_1 = -1$ ou pH=2,0 e $x_2 = -1$ ou 0,05% de pepsina). E quando estimado pelo modelo a $Y_1 = 80,20$ g de colágeno em 100 g de IC. Este ensaio foi reproduzido experimentalmente em duplicata e o conteúdo médio de colágeno do IC obtido na extração foi de $80,74 \pm 0,14$ g de colágeno em 100 g de IC. Comparando este conteúdo médio de colágeno do IC com o estimado pelo modelo observou-se que não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) e, portanto, o modelo proposto foi validado e confirmado que pode ser utilizado para fins preditivos.

3.6. Rendimento e grau de purificação do IC

O rendimento e o grau de purificação do IC de barbela de peru foram calculados a partir do modelo validado, sendo que o rendimento foi de $25\% \pm 1,21$. O sucesso do rendimento do processo de extração de colágeno, segundo Nalinannon et al. (2007) também foi dependente da combinação do uso de ácido com pepsina. O rendimento da extração de colágeno foi de 15,8% até 49,10% quando utilizou ácido e pepsina de diferentes matérias-primas, tais como pele de peixes, pé de frango, túnica albugínea de suínos imunocastrados e casca de ovo (Nagai, Araki e Suzuki, 2002; Ogawa et al., 2003; Liu, Li e Guo, 2007; Nalinannon et al., 2007; Simões et al., 2014; Mohammadi et al., 2016; Zhou et al., 2016).

O grau de purificação do IC foi de 3,9 vezes em relação ao conteúdo de colágeno da barbela de perus machos. O conteúdo médio de colágeno do IC obtido foi de $80,74 \pm 0,14$ g de colágeno em 100 g de IC e o conteúdo de colágeno da barbela de perus machos foi de $20,55 \pm 0,35$ g de colágeno em 100 g de matéria-prima. O grau de purificação do isolado de colágeno de túnicas albugíneas foi de 3,5 vezes, sendo que a túnica albugínea apresentou 23,24 g de colágeno em 100 g de matéria-prima e IC com 81,9 g de colágeno em 100 g de IC (Simões et al., 2014).

3.7. Perfil de eletroforese do IC de barbelas de peru

O perfil de eletroforese em SDS-PAGE do IC de barbelas de peru foi comparado com o marcador de peso molecular e padrão de colágeno tipo I (Figura 4). A eletroforese do padrão de colágeno tipo I apresenta bandas de maior peso molecular e indica a presença de pelo menos duas cadeias α diferentes (α_1 e α_2), bem como uma cadeia β (Ricard-Blum, 2011; Zhou et al., 2016). O perfil de eletroforese do IC apresentou bandas com mobilidades próximas ao padrão de colágeno tipo I. E quando comparado com o marcador de peso molecular, apresentou bandas com peso molecular acima de 30 kDa e predominância de 30 kDa a 220 kDa. Assim sendo, observou-se que o perfil de eletroforese de IC de barbela de perus machos apresentou similaridade com o perfil de eletroforese do colágeno tipo I.

CONCLUSÃO

Para extração e obtenção de IC de barbelas de perus machos a melhor condição do processo foi quando utilizou o pH do ácido acético igual a 2,0 e 0,05% de pepsina, com rendimento de 25% e grau de purificação de 3,9 vezes. O perfil de eletroforese do IC foi

similar ao do colágeno tipo I. A obtenção de IC de barbelas de perus machos é simples e viável para ser executada e pode ser recomendada a indústria para reaproveitar este subproduto para elaboração de um aditivo para aplicação em alimentos, embalagens, cosméticos e medicamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, S. G. T., PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. H. Functional properties of collagenous material chicken feet. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.52, p.289-293, 2002.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 19th ed. Maryland, United States: Association of Official Analytical Chemists, 2012.

BAILEY, A. J., SIMS, T. J., DUANCE, V. C., LIGHT, N. D. Partial characterization of a second basement membrane collagen in human placenta. **Febs Letters**, v.99, n.2, 1979.

BAILEY, A. J.; LIGHT, N. D. **Connective tissue in meat and meat products**. Barking: Elsevier, 1989, 355p.

BALIAN, G. BOWES, J. H. The structure and properties of collagen. In A.G. Ward & A. Courts (Eds.). **The science and technology of gelatin** (pp.1-30). London: Academic Press. , 1977.

BARATTI, M.; AMMANNATI, M.; MAGNELLI, C.; MASSOLO, A.; DESSI-FULGHERI, F. Are large wattles related to particular MHC genotypes in the male pheasant? **Genetica**, v. 138, p. 657-665, 2010.

BENJAKUL, S., THIANILAKUL, Y., VISESSANGUAN, W., ROYTRAKUL, S., KISHIMURA, H., PRODPRAN, T., MEESANE, J. Extraction and characterization of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*). **Journal Science Food Agriculture**, v.90, p.132-138, 2010.

BUCHHOLZ, R. Thermoregulatory role of the unfeathered head and neck in male wild turkeys. **The Auk**, v. 113, p. 310-318, 1996.

GELSE, K.; POSCHL E.; AIGNER T. Collagens - structure, function, and biosynthesis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.55, p.1531-1546, 2003.

KOLAR, K. Colorimetric determination of hidroxiprolina as measure of collagen content in meat and meat products: NMK collaborative study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 73, p. 54-57, 1990.

LIU, D. C., LIN, Y., K., CHEN, M. T. Optimum Condition of Extracting Collagen from Chiken Feet and its Characteristics. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v.14, p.1638-1644, 2001.

LIU, D.; WEI, G.; LI, T.; HU, J.; LU, N.; REGENSTEIN, J.M.; ZHOU, P. Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. **Food Chemistry**, v. 172, p. 836-843, 2015.

LIU, H.; LI, D.; GUO, S.. Studies on collagen from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Food Chemistry**, v. 101, p. 621–625, 2007.

MOHAMMADI, R.; MOHAMMADIFAR, M.A.; MORTAZAVIAN, A.M.; ROUHI, M.; GHASEMI, J.B.; DELSHADIAN, Z. Extraction optimization of pepsin-soluble collagen from eggshell membrane by response surface methodology (RSM). **Food Chemistry**, v. 190, p. 186-193, 2016.

NAGAI, T.; ARAKI, Y.; SUZUKI, N. Collagen of the skin of ocellate puffer fish (*Takifugu rubripes*). **Food Chemistry**, v. 78, p. 173–177, 2002.

NALINANON, S.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; KISHIMURA, H. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). **Food Chemistry**, v. 104, p. 593–601, 2007.

NALINANON, S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H.; OSAKO, K. Type I collagen from the skin of ornate threadfin bream (*Nemipterus hexodon*): Characteristics and effect of pepsin hydrolysis. **Food Chemistry**, v.125, p.500–507, 2011.

OGAWA, M., MOODY, M. W., PORTIER, R. J., BELL, J., SCHENXNAYDER, M. A.; LOSSO, J. N. Biochemical properties of black drum and sheephead seabream skin collagen. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 8088–8092, 2003.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: no caminho da pesquisa**. 2^a Ed., Cocal do Sul: IMPRINT, 2001.

PINES, M.; SCHICKLER, M.; HURWITZ, S.; YAMAUCHI, M. Developmental changes in skin collagen biosynthesis pathway in posthatch male and female chickens. **Poultry Science**, v. 75, p. 484-490, 1996.

RICARD-BLUM, S. The Collagen family. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, p. 1-19, January, 2011.

SADOWSKA, M., KOODZIEJSKA, L., NIECIKOWSKA, C. Isolation of collagen from the skins of Baltic cod (*Gadus morhua*). **Food Chemistry**, v.83, p.257–262, 2003.

SCHMIDT, M.M.; DORNELLES, R.C.P.;MELLO, R.O.; KUBOTA, E.H.; MAZUTTI, M.A.; KEMPKA, A.P.; DEMIATE, I.M. Collagen extraction process, **International Food Research Journal**, v. 23, p. 913-922, 2016.

SIMÕES, G.S.; SILVEIRA, E.T.F.; OLIVEIRA, S.R.; POLEZE, E.; ALLISON, J.R.D.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Optimum conditions for extracting collagen from the tunica

albuginea of immunologically castrated pig testes and the functional properties of the isolated collagen. **Meat Science**, v. 96, p.1460-1468, 2014.

SHIMOKOMAKI, M. ; DUANCE, V.C.; BAILEY, A.J. Identification of a new disulfide bonded collagen from cartilage. **FEBS Letters**, v. 121, p. 51-54, 1980.

SHON, J., E.O, J-H., HWANG, S. J., EUN, J-B. Effect of processing conditions on functional properties of collagen powder from skate (*Raja Kenojei*) skins. **Food Science Biotechnology**, v.20, p.99-106, 2011.

STATSOFT. Inc. Corporate. **STATISTICA** (data analysis software), version 7. Tulsa, Oklahoma, USA, 2004.

TANAKA, M.C.Y.; SHIMOKOMAKI, M. Collagen types in mechanically deboned chicken meat. **Journal of Food Biochemistry**, v. 20, p. 215-225, 1996.

THUY, L.T.M.;OKAZAKI, E.; OSAKO, K. Isolation and characterization of acid-soluble collagen from the scales of marine fishes from Japan and Vietnam. **Food Chemistry**, v. 149, p. 264-270, 2014.

WANG , L., YANG, B., DU, X., YANG, Y., LIU, J. Optimization of conditions for extraction of acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by response surface methodology. **Innovative of Food Science and Emerging Technologies**, v.9, p.604–607, 2008.

WOESSNER, J.F., Jr. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 93, p. 440-447, 1961.

WOO, J. W., YUA, S. J., CHOB, S. M., LEEA, Y. B., KIMA, S. B. Extraction optimization and properties of collagen from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) dorsal skin. **Food Hydrocolloids**, v.22, p.879–887, 2008.

YAN, M., BAFANG LI, B., ZHAO, X., REN, G., ZHUANG, Y., HOU, H., ZHANG, X., CHEN, L., FAN, Y. Characterization of acid-soluble collagen from the skin of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*). **Food Chemistry**, v.107, p.1581–1586, 2008.

ZHOU, C.; LI, Y.; YU, X.; YANG, H.; MA, H.; YAGOUB, A.E.A.; CHENG, Y.; HU, J.; OUT, P.N.Y. Extraction and characterization of chicken feet soluble collagen. **LWT Food Science and Technology**, v. 74, p. 145-153, 2016.

FIGURAS

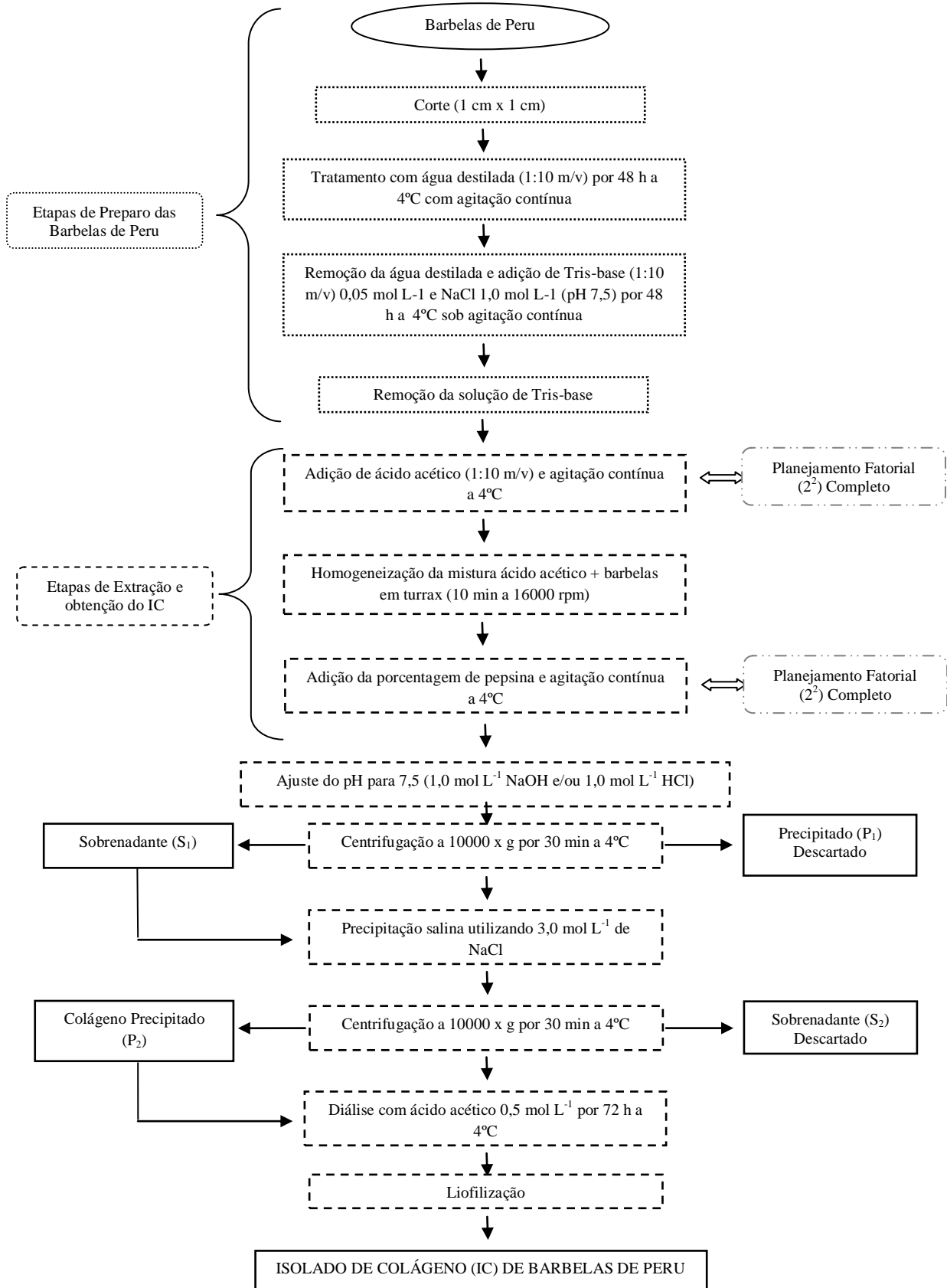


Figura 1. Fluxograma para extração e obtenção de IC de barbelas de perus (Simões et al., 2014 com adaptações).

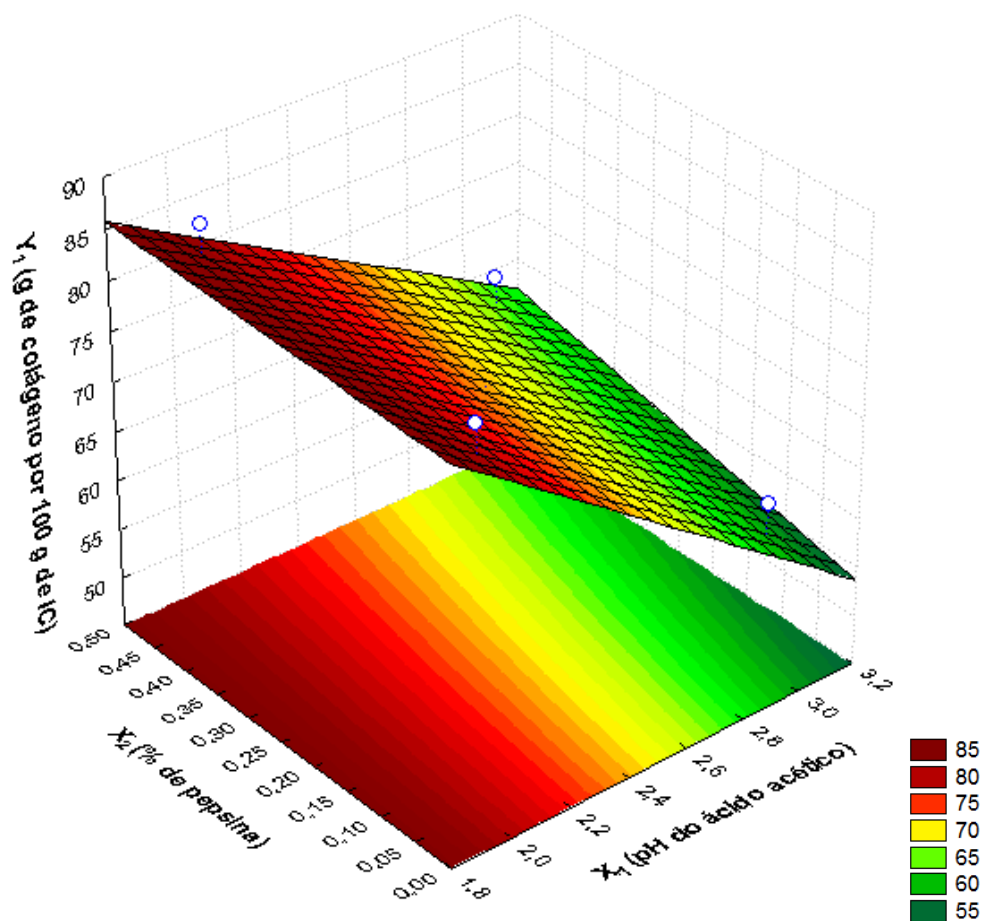


Figura 2. Superfície de resposta para Y_1 (g de colágeno em 100 g de IC) para extração e obtenção de IC de barbeta de peru.

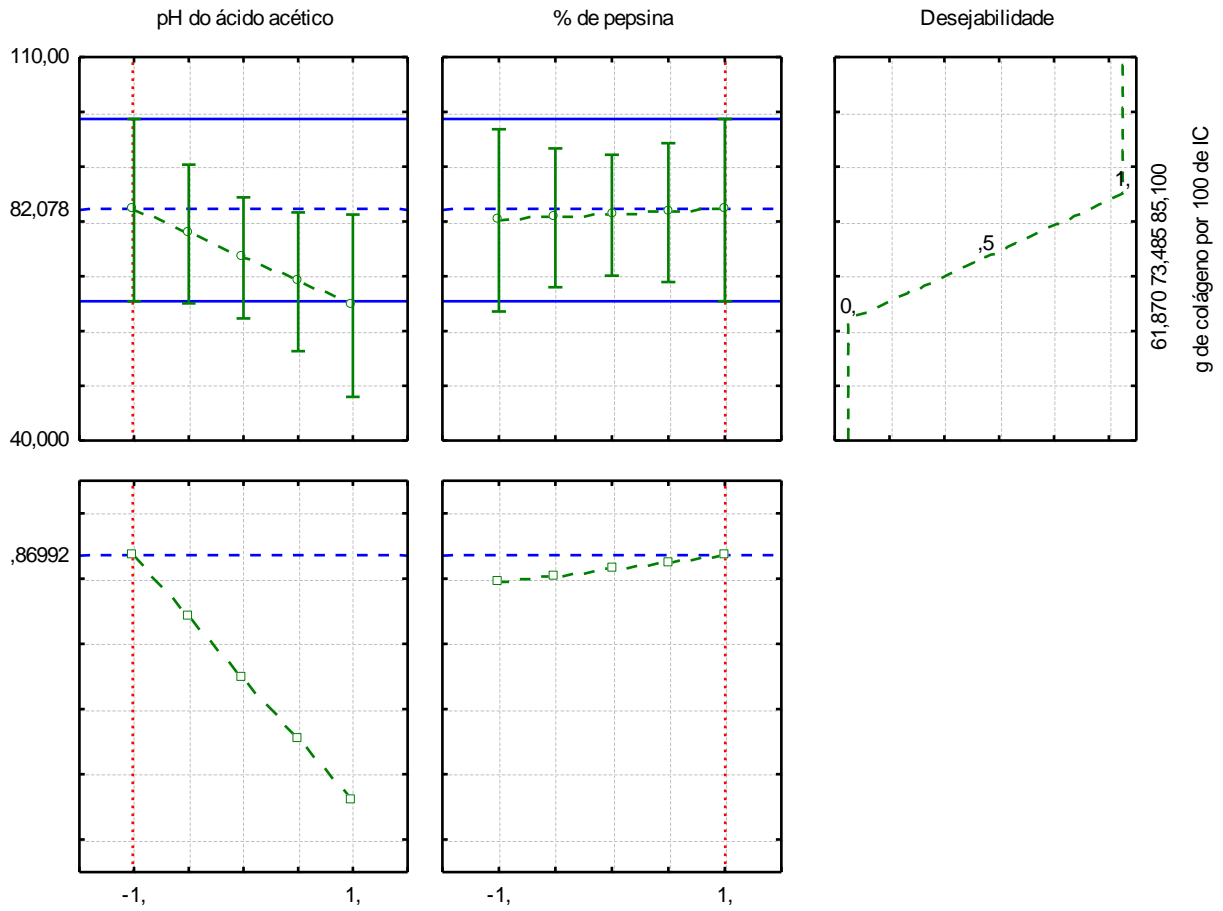


Figura 3. Parâmetro estimado de desejabilidade para as variáveis X_1 (pH do ácido acético) e X_2 (% de pepsina) para extração e obtenção de IC de barbelas de perus.

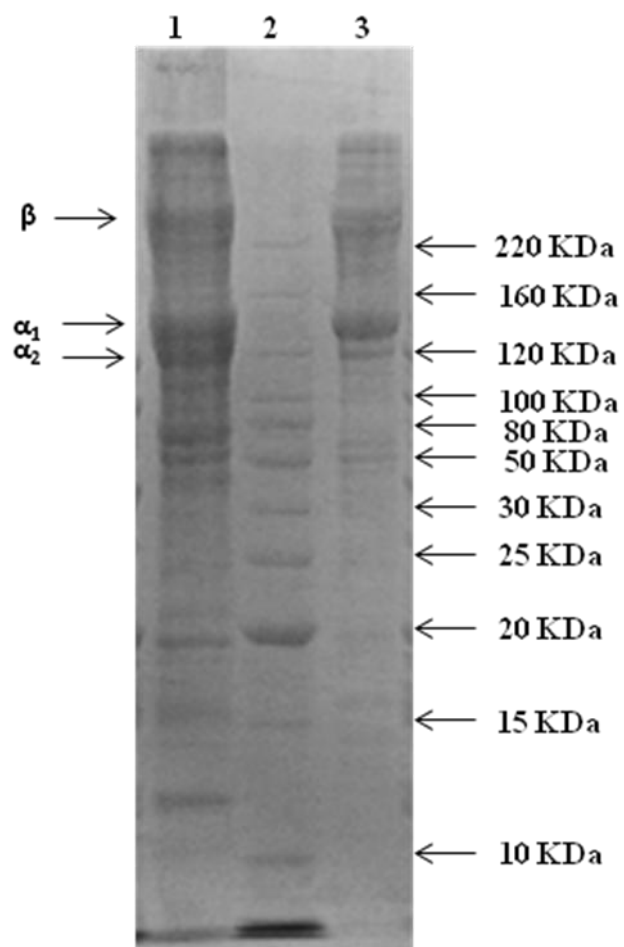


Figura 4- SDS-Page do IC de barbelas de perus. Coluna 1 – isolado de colágeno (IC); coluna 2- Marcador de peso molecular (Padrão invitrogen); coluna 3- Padrão de colágeno tipo I (Sigma).

Tabela 1. Composição química e conteúdo de colágeno de barbelas de perus (g por 100 g).

Amostras	Umidade*	Proteína*	Lipídeos*	Cinzas*	Conteúdo de Colágeno***
Barbela 140 dias Macho	81,10 ^a (±0,12)	21,02 ^a (±0,20)	0,84 ^a (±0,03)	0,39 ^a (±0,02)	20,55 ^a (±0,35)
Barbela 140 dias Fêmea	82,32 ^b (±0,24)	15,49 ^b (±0,21)	0,93 ^a (±0,08)	0,43 ^a (±0,03)	14,27 ^b (±1,56)

^{a,b} Médias seguidas por diferentes letras na mesma coluna diferem no test *t-student* ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$); * g em 100 g de matéria-prima ***g de colágeno em 100 g de matéria-prima.

Tabela 2. Planejamento fatorial completo (2^2) com variáveis independentes e função resposta (Y_1) nas condições de extração e obtenção de IC de barbelas de perus

Ensaio	Variáveis independentes e níveis de variação		Função Resposta (Y_1)
	pH do ácido acético $x_1 (X_1)$	Porcentagem (%) de pepsina $x_2 (X_2)$	Conteúdo de Colágeno* (g de colágeno em 100g de IC)
1	-1 (2,0)	-1 (0,05)	83,22 ± 1,01
2	+1 (3,0)	-1 (0,05)	61,87 ± 1,17
3	-1 (2,0)	+1 (0,45)	85,10 ± 0,90
4	+1 (3,0)	+1 (0,45)	67,64 ± 1,29
5 (C)	0 (2,5)	0 (0,25)	66,08 ± 1,53
6 (C)	0 (2,5)	0 (0,25)	69,48 ± 1,52
7 (C)	0 (2,5)	0 (0,25)	66,66 ± 1,36

*Médias e desvio padrão (n=3). (C)= ponto central

Tabela 3. Efeitos estimados para a função resposta (Y_1) a partir dos resultados do planejamento fatorial completo (2^2)

Variáveis Independentes	Coefficiente de Regressão	Erro Padrão	t(3)	p
Média	71,43	2,09	34,16	0,000**
X_1 (pH do ácido acético)	-9,70	2,77	-3,51	0,039**
X_2 (% de pepsina)	1,91	2,77	0,69	0,539
$X_1 \cdot X_2$	0,97	2,77	0,35	0,748

* Y_1 = g de colágeno por 100 g; ** fatores significativos ($p < 0,05$).

Tabela 4. ANOVA do modelo linear para a extração e obtenção de IC de barbelas de perus

Fontes de variação	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado
Regressão	461,7784	2	230,8892	69,79*
Resíduo	25,03	4	6,2575	
Total	486,8084	6		

$F_{\text{tabulado (2,2,5\%)}}=19,00$; $*F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabulado}}$ = regressão significativa.
 Coeficiente de determinação (R^2) = 0,8113.

6 CONCLUSÃO

Os peitos de peru PSE apresentaram pH de 5,90 e menor do que os peitos Normal. Os peitos de peru PSE apresentaram redução de 2% e 13% na CRA e FC e aumento de 10%, 21% e 3% na PPC, DP e IFM, respectivamente que comprometem as propriedades funcionais desta carne. Pela histologia dos peitos de peru PSE confirmou-se que a CRA reduziu conforme a redução de 19,5% no diâmetro das fibras e maior espaço extracelular no endomísio.

Dos diferentes cortes comerciais, o peito apresentou maior conteúdo de proteínas, cinzas, AGP, ômega 3 e ômega 6 e maior estabilidade oxidativa, a coxa, sobrecoxa, asa e pescoço apresentaram composição química, física e perfil de ácidos graxos similares, enquanto que a pele apresentou menor conteúdo de proteínas, cinzas, AGP, ômega 3 e ômega 6 e menor estabilidade oxidativa.

A melhor condição para extração e obtenção de IC de barbelas de peru macho foi quando utilizou o pH do ácido acético igual a 2,0 e 0,05% de pepsina para hidrólise com rendimento de 25% e grau de purificação de 3,9 vezes em relação a matéria-prima. O perfil de eletroforese do IC foi similar ao colágeno tipo I.

ANEXO

Quadro 1. Nomenclatura usual e IUPAC dos ácidos graxos identificados neste estudo e a sua respectiva simbologia

SIMBOLOGIA	NOMENCLATURA IUPAC*	NOMENCLATURA USUAL
C12:0	Ácido dodecanoico	Ácido láurico
C14:0	Ácido 9-tetradecanoico	Ácido mirístico
C16:0	Ácido hexadecanoico	Ácido palmítico
C16:1n-7	Ácido 9-hexadecenóico	Ácido palmitoleico
C16:1n-9	-	-
C17:0	Ácido heptadecanoico	Ácido margárico
C18:0	Ácido octadecanoico	Ácido esteárico
C18:1n-9	Ácido 9-octaeceñoico	Ácido oléico
C18:2n-6	Ácido 9,12-octadecadienoico	Ácido linoleico
C18:3n-3	Ácido 9,12,15-octadecatrienoico	Ácido α -linolenico
C18:3n-6	Ácido 6,9,12-octadecatrienoico	Ácido γ -linolenico
C20:2n-6	Ácido 11,14-eicosadienoico	-
C20:3n-3	Ácido 11,14,17-eicosatrienoico	-
C20:4n-6	Ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico	Ácido araquidônico
C22:0	Ácido docosanoico	Ácido behênico
C22:4n-6	Ácido 7,10,13,16-docosatetraenoico	Ácido adrênico
C22:5n-3	Ácido 7,10,13,16,19-docosapentaenoico	Ácido clupanodônico
C22:5n-6	Ácido 4,7,10,13,16-docosapentaenoico	Ácido docosapentaenoico
C22:6n-3	Ácido 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	Ácido cervônico

*IUPAC= União Internacional de Química Pura e Aplicada.