



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

MARCELLA DIAS MARINHO MENEZES

**PEITO DE FRANGO MARINADO COM GENGIBRE: EFEITO DA ATIVIDADE
PROTEOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E DA TEMPERATURA NAS
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS**

**ALEGRE-ES
FEVEREIRO-2019**

MARCELLA DIAS MARINHO MENEZES

**PEITO DE FRANGO MARINADO COM GENGIBRE: EFEITO DA ATIVIDADE
PROTEOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E DA TEMPERATURA NAS
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a Consuelo Domenici Roberto
Coorientadora: Prof^a Raquel Vieira de Carvalho

ALEGRE - ES
FEVEREIRO - 2019

MARCELLA DIAS MARINHO MENEZES

**PEITO DE FRANGO MARINADO COM GENGIBRE: EFEITO DA ATIVIDADE
PROTEOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E DA TEMPERATURA NAS
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2019.



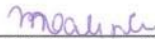
Prof^ª. Dr^ª. Consuelo Domenici Roberto
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora



Prof^ª. Dr^ª. Pollyanna Ibrahim Silva
Universidade Federal do Espírito Santo
Coorientadora



Prof^ª. Dr^ª. Jussara Moreira Coelho
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinadora



Prof^ª. Dr^ª. Maria Emília Rodrigues Valente
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinadora

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus por ter me dado força em todos os momentos sempre alimentando a minha fé, por ouvir minhas preces e não me deixar desistir.

Minha amada mãe que sempre esteve comigo, por ser minha maior companheira e acreditar na minha capacidade.

Ao meu pai pelo incentivo, palavras sábias sempre procurando me proporcionar o melhor, não medindo esforços para a minha educação.

Ao Marco Túlio, por ser meu amigo, companheiro, e eterno namorado! Obrigada por me incentivar a ser uma pessoa melhor.

A família Marinho, em especial aos meus primos por me proporcionarem nesses dois anos intensos momentos de felicidade, no qual renovei minhas energias.

Gostaria de agradecer a minha orientadora Consuelo, pela orientação, pelos ensinamentos, e direcionamentos.

As professoras Raquel Vieira de Carvalho, Pollyanna Ibrahim Silva pela coorientação.

As professoras Juliana e Suzana por toda a contribuição para a realização deste experimento.

Ainda agradecendo a Deus, venho agradecer a cada pessoa certa que ele colocou no meu caminho, meus queridos amigos que fiz aqui e que levarei para sempre no meu coração Drielli, Patricia, Natassia, Samira e Ana Carla.

A Pamela pela imensa ajuda muito obrigada.

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que me ajudaram no andamento do projeto, Wanessa Ferrari, Victor Pizzol e Maria Cansi, que sempre se disponibilizaram a me ajudar. Obrigada por tudo.

A todos os funcionários dos laboratórios e do PCTA, em especial Toninho e Mauricio e Leticia.

A UFES, pela oportunidade que me foi dada de ingressar no mestrado.

A CAPES, pela concessão da bolsa.

SUMÁRIO

RESUMO.....	VIII
ABSTRACT	X
1. INTRODUÇÃO	1
2. Objetivo geral	2
2.1 Objetivos específicos	2
3. Revisão bibliográfica	3
3.1. Composição e estrutura da carne	3
3.2 Transformação do músculo e maciez da carne.....	5
3.3 Enzimas proteolíticas exógenas.....	6
3.4 Processamento e qualidade da carne de frango: características físico-químicas e sensoriais	8
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
4.1. Planejamento experimental e análise estatística dos dados	11
4.2. Metodologia.....	12
4.2.1. Obtenção do extrato bruto de gengibre	133
4.2.2. Obtenção dos cortes de frango.....	133
4.2.3. Marinação dos peitos de frango.....	134
4.2.4. Análise sensorial.....	199
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	211
5.1 Indicadores de qualidade da carne de frango	211
5.2 Efeito do extrato bruto de gengibre na capacidade de retenção de água e perda por cocção de peito de frango	211
5.3 Efeito do extrato bruto de gengibre no índice de fragmentação miofibrilar (IFM) e textura de peito de frango	244
5.4 Efeito da marinação com extrato bruto de gengibre e da temperatura na perda de peso pós cocção e textura de peito de frango	266
5.5. Teste de aceitação sensorial e teste de intenção de compra dos peitos de frango marinados com gengibre	30

6. CONCLUSÃO.....	344
7. REFERÊNCIAS.....	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Organização da estrutura do músculo estriado esquelético.....	4
Figura 2: Descrição dos experimentos	12
Figura 3: Preparo dos peitos de frango marinados: (a) Padronização dos cortes de peitos de frango; (b) Injeção do líquido de marinar.	15
Figura 4: Ficha aplicada no teste de aceitação e no teste de intenção de compra.....	20
Figura 5: Correlação de Pearson entre o índice de fragmentação miofibrilar (IFM) e a força de cisalhamento (Kgf).....	255
Figura 6: Distribuição da frequência de respostas dos consumidores em função da intenção de compra, (1=certamente não compraria, 2=possivelmente compraria, 3 =tenho dúvidas se compraria, 4=possivelmente compraria, 5=certamente compraria).	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição do líquido de marinar e dos peitos de frango marinados sem extrato bruto de gengibre (tratamento controle) e com extrato bruto de gengibre nas concentrações de 1, 3, 5 ou 7%.....	14
Tabela 2: Peitos de frango marinados com e sem adição de extrato de gengibre.....	16
Tabela 3: Médias dos valores de perda de peso pós cocção (%) e capacidade de retenção de água (CRA) dos peitos de frango marinados sem extrato de gengibre e com 1%, 3%, 5% ou 7% de extrato enzimático bruto de gengibre.....	22
Tabela 4: Médias dos valores do índice de fragmentação miofibrilar (IFM) e da força de cisalhamento (Kgf) dos peitos de frangos sem adição de extrato e com adição de 1%, 3%, 5% ou 7% de extrato enzimático bruto de gengibre.....	25
Tabela 5: Médias da perda de peso pós-cocção (%) dos peitos de frango com e sem extrato de gengibre (Peito de frango com injeção de 20% líquido de marinar; Peito de frango com a injeção de 20% de água; Peito de frango; e Peito de frango com injeção de 20% líquido de marinar contendo 7% de extrato bruto de gengibre) para a interação entre fatores marinação e temperatura de cocção	26
Tabela 6: Médias da força de cisalhamento (Kgf) dos peitos de frango submetidos a diferentes tratamentos (Peito de frango com injeção de 20% líquido de marinar; Peito de frango com a injeção de 20% de água; Peito de frango; e Peito de frango com injeção de 20% líquido de marinar contendo 7% de extrato bruto de gengibre) para a interação entre fatores marinação e temperatura de cocção	27
Tabela 7: Média hedônicas do teste de aceitação sensorial dos marinados de peito de frango sem adição de extrato e com adição de 3 ou 7% de extrato bruto de gengibre para os atributos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global.....	28

RESUMO

MENEZES, Marcella Dias Marinho. **Peito de frango marinado com gengibre: efeito da atividade proteolítica do extrato bruto e da temperatura nas características físico-químicas e sensoriais**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientadora: Prof^a. Dra. Consuelo Domenici Roberto. Coorientadora: Prof^a. Dra. Raquel Vieira de Carvalho.

A técnica de marinação, incluindo no líquido de marinar sais e fosfato e o uso de enzimas proteolíticas exógenas obtidas de fontes naturais como os vegetais, é uma alternativa para melhorar os atributos sensoriais e a qualidade da carne de frango. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação do extrato enzimático bruto de gengibre nas concentrações de 1, 3, 5, 7 % (m/v), na capacidade de retenção de água, perda de peso por cocção, força de cisalhamento e índice de fragmentação miofibrilar de cortes de peito de frango (músculo *Pectoralis major*). Posteriormente, foram testados cinco tratamentos para verificar a influência de diferentes temperaturas (40, 50, 60, 70 e 80 °C) em peitos de frangos marinados sem e com adição do extrato, avaliando-se a perda de peso pós cocção e a força de cisalhamento dos cortes. Foram realizados também o teste de aceitação sensorial e teste de intenção de compra. Houve uma diminuição significativa da perda de peso pós cocção ($P < 0,05$) dos tratamentos nos quais foi injetado o extrato bruto de gengibre em relação ao controle. Entre os tratamentos com adição de extrato, apenas o peito de frango com 1% de extrato bruto de gengibre diferiu significativamente dos demais ($P < 0,05$), apresentando maior perda de peso pós cocção. Em relação à capacidade de retenção de água observou-se um aumento significativo ($P < 0,05$) para os peitos de frango com adição extrato em relação ao tratamento controle, independentemente da concentração de extrato testada. Houve redução no valor da força de cisalhamento ($P < 0,05$) e aumento no índice de fragmentação miofibrilar ($P < 0,05$) nos tratamentos com adição de extrato de gengibre em relação ao tratamento controle. A interação entre os fatores marinação sem e com adição de extrato de gengibre e temperatura (40, 50, 60, 70 e 80 °C) foi significativa ($P < 0,05$) para perda de peso pós cocção e força de cisalhamento, com melhorias nessas características em relação ao controle.

Pelo teste de aceitação sensorial, os peitos de frangos marinados com adição de 3% de extrato de gengibre tiveram maior aceitação em relação aos demais.

Palavras-chave: Fragmentação miofibrilar, *Pectoralis major*, Proteínas miofibrilares, Marinação, *Zingiber officinale Roscoe*.

ABSTRACT

MENEZES, Marcella Dias Marinho. **Ginger marinated chicken breast: effect of proteolytic activity of crude extract and temperature on physical-chemical and sensory characteristic.** 2019. Dissertation (Master in Food Science and Technology). Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Advisor: Prof. Dr. Consuelo Domenici Roberto. Co-advisor: Prof. Dr. Raquel Vieira de Carvalho

The marination technique, including in the liquid marinating salts and phosphate and the use of exogenous proteolytic enzymes, obtained from natural sources such as vegetables, to improve the sensorial attributes, represents an alteration to improve the quality of chicken meat. In this context, the present study had the objective of evaluating the effects of application of the crude enzymatic extract of ginger at concentrations of 1, 3, 5, 7% w / v, water retention capacity, weight loss per cooking, shear force and myofibrillar fragmentation index (MFI) of chicken breast cuts (Pectoralis major muscle). Afterwards, five treatments were tested to verify the influence of different temperatures (40, 50, 60, 70 and 80 ° C) on breasts of marinated chicken with and without crude, evaluating post-bake weight loss and the shear force of the cuts. The sensorial acceptance test and the intention of purchase test were performed. There was a significant decrease in post-cooking weight loss ($P < 0.05$) from treatments in which the chicken breasts were injected with crude ginger extract in relation to the control. Among the treatments with addition of extract, only the chicken breast with 1% crude ginger extract differed significantly from the others ($P < 0.05$), presenting greater weight loss after cooking. In relation to the water retention capacity, a significant increase ($P < 0,05$), was observed for chicken breasts with extract addition in relation to the control treatment, regardless of the extract concentration tested. There was a decrease in the value of shear force ($P < 0.05$) and an increase in myofibrillar fragmentation index ($P < 0.01$) in the treatments with addition of ginger extract in relation to the control treatment. The interaction between the marination factors with and without addition of ginger extract and temperature (40, 50, 60, 70 and 80 ° C) was significant ($P < 0.05$) for weight loss after cooking and texture with improvements in these characteristics in relation to control. By the sensorial acceptance test, the breasts of marinated chicken with the addition of 3% of ginger extract had greater acceptance in relation to the others.

Keywords: Myofibrillar Fragmentation, myofibrillar proteins, marination, *Zingiber officinale* Roscoe.

1. INTRODUÇÃO

O setor de produção de carne é um dos mais importantes segmentos da pecuária de corte. A demanda dos consumidores por uma carne de melhor qualidade é sempre crescente e a indústria procura fornecer carne e derivados saborosos, seguros e saudáveis (SOBRAL et al., 2018; LANA; ZOLLA, 2016; JOO et al., 2013).

Em relação à qualidade, um dos principais atributos sensoriais avaliados pelo consumidor, e que influencia o consumo de carne, é a textura (JOO et al., 2013), que por sua vez, é influenciada por vários fatores nos períodos *ante* e *post mortem* do animal, e durante o preparo e processamento da carne. Nesse sentido, o efeito da temperatura, associado a outros fatores, pode resultar na redução da capacidade de retenção de água das proteínas da carne, ocasionando alteração da textura e perda de rendimento dos cortes cárneos. Por outro lado, a temperatura pode resultar na melhoria da maciez das carnes, principalmente por alterações na estrutura do tecido conectivo pela ação do calor (BEKHIT et al., 2013 e PALKA et al., 1999).

Além da temperatura outras técnicas podem ser empregadas para melhoria da qualidade de cortes cárneos, tais como a marinação e o amaciamento utilizando enzimas extraídas de fontes vegetais.

A marinação é uma técnica frequentemente usada para melhorar a textura de músculos mais rígidos, melhorar e diferenciar sabores, e aumentar a conservação da carne (BORTOLUZZI, 2006). As soluções de marinar, em geral, contêm misturas de sais e fosfatos e compostos ácidos (em geral provenientes do vinagre ou ácido cítrico), e podem incluir ingredientes naturais, secos, especiarias, ervas e outros extratos (VANGELOVA et al. 2014). Outra técnica empregada para melhorar a textura e maciez de carnes é o uso de enzimas proteolíticas exógenas, obtidas de fontes naturais como os vegetais. A ação efetiva de enzimas de origem vegetal no amaciamento de carnes, principalmente, as proteases de cisteína, foi demonstrada por Ha (2011) na aplicação da papaína (EC 3.4.22.2) liofilizada, extraída do látex do fruto *Carica papaya* L. em carne bovina. Naveena et al, (2001) avaliaram a aplicação de extrato aquoso proveniente do rizoma de gengibre contendo zingibaina (EC 3.4.22.67) em carne de frango e Ha (2013) realizou a caracterização enzimática da actinidina (EC 3.4.22.14) extraída do kiwi (*Actinidia deliciosa*) determinando sua especificidade em diferentes frações proteicas da carne.

O efeito de enzimas proteolíticas exógenas, promovendo o aumento da capacidade de retenção de água, rendimento e maciez da carne, entre outras características, também foi demonstrado por Sullivan e Calkin (2010). Naveena e Mendiratta (2001) relataram um aumento na suculência e na capacidade de retenção de água de carnes de galinhas poedeiras marinadas com extrato de gengibre nas concentrações de 1, 3 e 5% (v/v). Os autores associaram o aumento da capacidade de retenção de água dos cortes ao surgimento de espaços intracelulares, causados pela degradação das proteínas da carne pelas proteases presentes no extrato. Essa degradação resultou em um afrouxamento da estrutura miofibrilar e liberação dos miofilamentos finos e grossos, resultando em maior maciez da carne.

Neste contexto, propõe-se avaliar os efeitos da aplicação do extrato enzimático bruto de gengibre nas características físico-químicas de peito de frango marinado, e verificar a influência da marinação e da temperatura de cocção nas características físico-químicas e sensoriais do peito de frango.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da aplicação do extrato enzimático bruto de gengibre nas características físico-químicas de cortes de peito de frango (músculo *Pectoralis major*) marinados e, posteriormente, verificar a influência da marinação e da temperatura de cocção nos parâmetros físico-químicos e sensoriais de peito de frango.

2.1 Objetivos específicos

- Determinar a capacidade de retenção de água, perda de peso por cocção, força de cisalhamento e índice de fragmentação miofibrilar de peito de frango (*Pectoralis major*) marinado com extrato enzimático bruto de gengibre.
- Determinar o efeito da marinação e da temperatura de cocção nos parâmetros físico-químicos de peito de frango marinado com extrato enzimático bruto de gengibre.
- Realizar a análise sensorial do peito de frango marinado com extrato enzimático bruto de gengibre.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Composição e estrutura da carne

A carne fresca, que corresponde ao tecido muscular esquelético estriado do animal de diferentes espécies, é uma matriz complexa em função da sua composição química e das alterações decorrentes de reações bioquímicas que ocorrem no músculo após abate do animal. Como alimento é rica em nutrientes, sendo uma das principais fontes de proteína na dieta humana. As principais características sensoriais da carne fresca (cor, textura, sabor e maciez) são influenciadas por alguns fatores, como, estrutura muscular, composição química, alterações bioquímicas dos tecidos musculares no período *post-mortem*, condições de manejo do animal pré e pós-abate, processamento, preparo e armazenamento, entre outros (LEE; JOO; RYU, 2010).

Em relação à composição química, a carne é constituída, em média, por 75% de água, 20% de proteína, 3% de gordura, 2% de substâncias não proteicas, até 1% de carboidratos, principalmente glicogênio, minerais e vitaminas. As proteínas, que correspondem quantitativamente ao segundo maior grupo de componentes químicos da carne, podem ser classificadas de acordo com a solubilidade em: miofibrilares (cerca de 50 a 55%), que são solúveis em solução salina de baixa força iônica; sarcoplasmáticas (cerca de 30 a 35%), solúveis em água; e estromais (cerca de 10-15%), entre as quais o colágeno é a principal proteína, insolúvel em água e solúvel em soluções ácidas e alcalinas (LAWRIE; LEDWARD, 2006; TONBERG, 2005).

O tecido muscular esquelético estriado representa de 35 a 65% do peso das carcaças, dependendo da fase de crescimento e engorda do animal. É formado por um conjunto de fascículos envolvidos por tecido conectivo denominado epimísio. Cada fascículo é constituído por um conjunto de fibras musculares, envolvidas pelo perimísio. Cada fibra muscular é recoberta pelo endomísio que está conectado ao sarcolema da célula muscular (Figura 1). A organização do músculo pode ser, então, distribuída em três níveis, sendo o endomísio, que envolve cada fibra muscular; o perimísio, que compartimenta o músculo em feixes de fibras; e o epimísio, que recobre externamente todo o músculo. O epimísio, perimísio e endomísio se misturam com agregados massivos do tecido conectivo (tendões) que se ligam aos ossos (LISTRAT et al., 2015; LAWRIE, 2005).

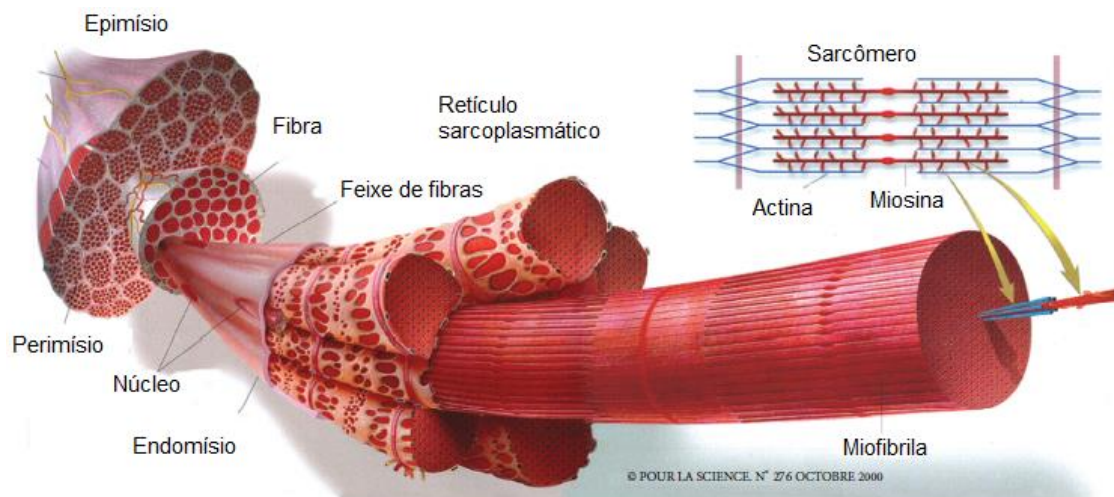


Figura 1: Organização da estrutura do músculo estriado esquelético.

Fonte: Listrat et al. (2015)

As fibras musculares são células características do tecido muscular esquelético estriado, alongadas e fusiformes, constituídas por miofibrilas, presentes no sarcoplasma. As proteínas miofibrilares, que constituem as miofibrilas, se organizam em miofilamentos finos e grossos, que resulta em um padrão definido de estrias ou faixas transversais alternadas, formando zonas claras (Banda I) e zonas escuras (Banda A), originando a estrutura do sarcômero, unidade contrátil envolvida na contração muscular, que se repete ao longo de todo o comprimento da fibra (LANA; ZOLLA, 2016; LAWRIE; LEDWARD, 2006).

As proteínas miofibrilares podem ser divididas em três subclasses: as proteínas contráteis (actina e miosina); as proteínas reguladoras (tropomiosina e troponina); e as proteínas estruturais (titina, nebulina, vinculina, desmina, distrofina e outras) que atuam como um suporte na estruturação do sarcômero (LAWRIE; LEDWARD, 2006; TONBERG, 2005). Os monômeros de actina G, que se polimerizam formando os filamentos de actina F, são os principais constituintes dos miofilamentos finos. Cada miofilamento fino contém cerca de 400 moléculas de actina, associadas às moléculas de troponina e tropomiosina. Os miofilamentos grossos contêm cerca de 200 a 300 moléculas de miosina (PUOLANNE; HALONEN, 2010). Na análise proteômica do tecido muscular esquelético estriado estima-se que mais de 65 tipos de proteínas compõem a estrutura do sarcômero (FRATERMAN et al., 2007).

3.2 Transformações do músculo e maciez da carne

A transformação do músculo em carne implica em mecanismos complexos e interdependentes, que se iniciam após a morte e sangria do animal e influenciam a qualidade da carne. Fatores como a reserva de glicogênio, pH e temperatura musculares interferem no desenvolvimento desses mecanismos bioquímicos, influenciando características como a maciez (THOMPSON et al., 2006).

Os mecanismos oxidativo e glicolítico no músculo do animal vivo são responsáveis pela produção de energia consumida no processo de contração muscular, promovendo o deslizamento dos miofilamentos finos sobre os grossos, e o encurtamento do sarcômero. Esse deslizamento é possível, porque a cabeça globular da miosina, proteína que compõe o miofilamento grosso, possui atividade ATPásica, e hidrolisa a molécula de ATP, produzindo a energia necessária para a contração do músculo. Após a morte e sangria do animal, no período *post mortem*, algumas das principais alterações são a perda do transporte de oxigênio pelo sangue e o consumo do suprimento de oxigênio armazenado no músculo pelo processo de contração muscular, até esgotamento. Neste momento o metabolismo energético das fibras musculares passa a ocorrer, predominantemente, pela via glicolítica com produção e acúmulo de ácido láctico no músculo e abaixamento do pH muscular a valores próximos de 5,4, até esgotamento do ATP. Uma vez esgotado todo o ATP do músculo, formam-se ligações permanentes entre actina e miosina e o músculo perde sua elasticidade. Nesse ponto, a carcaça do animal abatido apresenta uma contração intensa e irreversível, e rigidez máxima do músculo, que caracteriza o *rigor mortis* (THOMPSON et al., 2006; HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005; GOLL et al., 1984).

O processo de amaciamento natural da carne inicia-se após o *rigor mortis*, resultando em grandes mudanças na sua estrutura, devido, principalmente, à fragmentação das proteínas miofibrilares e citoesqueléticas por ação proteolítica de enzimas naturalmente presentes na carne (HOPKINS; GEESINK, 2009). O sistema das calpaínas é considerado, por vários autores, o principal mecanismo responsável pela proteólise miofibrilar que conduz ao amaciamento natural da carne (HERRERA-MENDEZ et al., 2006; KOOHMARAIE, 1995; OUALI; TALMANT, 1990). Esse sistema enzimático é formado, principalmente, pelas μ -calpaína e m-calpaína, ativadas por concentração de micromolar e milimolar de cálcio, respectivamente, e inibidas pela calpastatina (KOOHMARAIE, 1994). As proteínas citoesqueléticas como a desmina e

integrinas, que desempenham papel importante na manutenção da integridade da fibra muscular, são substratos da μ -calpaína (HUFFLONERGAN; LONERGAN, 2005; LAWSON, 2004).

3.3 Enzimas proteolíticas exógenas aplicadas na carne

A aplicação de enzimas vegetais para hidrolisar as proteínas em alimentos é um método reconhecido por melhorar ou modificar as propriedades físico-químicas, funcionais e sensoriais das proteínas, sem prejudicar o seu valor nutritivo, além de serem vantajosas (RAWDKUEN et al. 2013).

As proteases são divididas em dois grupos principais: as endopeptidases, que hidrolisam ligações peptídicas internas e clivam ligações peptídicas distantes dos terminais do substrato; e exopeptidases, que hidrolisam as ligações peptídicas terminais e clivam a ligação peptídica próxima do terminal amino ou carboxil do substrato. Baseada na estrutura química do centro ativo, as proteases são ainda classificadas em quatro grupos principais: proteases de serina; proteases aspárticas; proteases de cisteína; e metaloproteases. De acordo com o Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular, as proteases são classificadas no subgrupo 4 do grupo 3 (hidrolases), porém possuem enorme diversidade de ação e estrutura (RAO; TANKSALE; GHATGE, 1998).

Para obtenção dessas enzimas, podem ser empregados métodos de extração utilizando ondas ultrassônicas ou sonicação em condições de intensidade e frequência controladas. O ultrassom pode gerar cavitação e efeitos mecânicos capazes de alterar a conformação das enzimas, acelerar o contato entre enzima e substrato, promover a atividade biológica da enzima e aumentar sua atividade, podendo ser utilizada como uma técnica para extração e ativação de enzimas que serão aplicadas em alimentos (DALAGNOL, 2017; WANG et al., 2015; YU, et al, 2014; MA et al., 2011).

O estudo cinético de proteases vegetais e suas características específicas, juntamente com o entendimento do impacto na atividade proteolítica dessas enzimas quando aplicadas no processamento de alimentos, principalmente em relação ao pH e temperatura, vêm sendo estudadas nas últimas décadas (BEKHIT et al., 2013). Nafi et al. (2014) verificou que a atividade proteolítica ótima da zingibaína, presente em extratos de gengibre (extraídos com estabilizantes (EDTA e cisteína), precipitados

com 60% de sulfato de amônio, seguidos de diálise e liofilização, e utilizando azocaseína 0,1% (m/v) como substrato) foi a 60 °C. Na faixa de temperatura de 20 a 60 °C, sua atividade proteolítica variou de 5 a 25 U. mL⁻¹. Os autores também verificaram que a partir de 70 °C houve desnaturação enzimática com redução da atividade proteolítica da enzima.

No estudo de Thompson, Wolf e Allen (1973), o efeito do pH e temperatura na atividade proteolítica do extrato enzimático bruto de gengibre purificado parcialmente foi avaliado utilizando-se albumina de soro bovino como substrato. Os autores relataram que a temperatura ótima de atividade do extrato foi de 60 °C e pH ótimo entre 5,0 e 5,6. Esse extrato foi aplicado em carne de frango que foi armazenada a 5 °C por 20 horas. Nos testes para avaliação da textura, os valores de força de cisalhamento obtidos com a adição do extrato foram menores em comparação aos cortes de frango sem extrato.

Ichikawa et al. (1973) reportaram que a protease do gengibre (GP) pode ser dividida em dois tipos, GP-I e GP-II, que são 83% semelhantes na sequência de aminoácidos. Kim et al. (2007) demonstraram, através de análises de eletroforese SDS-PAGE, que essas proteases (GP-I e GP-II) quando comparadas à papaína degradaram mais o colágeno.

Em estudos sobre a aplicação de proteases em sistemas alimentícios, Kumar et al., (2015) estudaram seu efeito em carne de frango em relação à qualidade. Foram testados três grupos experimentais: controle (sem adição de extrato ou suco de limão); marinado com 20% de suco de limão; e marinado com 50% de extrato de gengibre. As amostras foram cortadas em pequenos cubos e mantidas em solução de marinar a 4 ± 1 °C por 16 horas. Em seguida as amostras foram assadas em forno elétrico a 240 °C por 20 minutos. Os autores relataram que a marinação da carne com o suco de limão ou com o extrato de gengibre melhorou os atributos sensoriais da carne de frango. Na análise do perfil de textura não houve diferença significativa nos parâmetros de dureza, coesividade e mastigabilidade entre as amostras com adição de suco de limão ou de extrato de gengibre. Já na amostra controle foram encontrados valores maiores de dureza e firmeza.

Tsai et al. (2012) estudaram o efeito da marinação com extrato enzimático bruto de gengibre em peito de pato *Muscovy* pós-abate. As amostras foram marinadas por 14 dias a 5 °C e, posteriormente, analisadas por eletroforese SDS-PAGE e por

western blot. Os resultados indicaram que as proteínas titina, desmina, miosina (região da cabeça da molécula), e α -actina foram degradadas extensivamente, quando comparadas ao controle. Os autores relataram que, dado que a titina é a maior proteína dos músculos estriados, sua degradação de forma acelerada pode levar à alteração da integridade das células musculares, reduzindo a força miofibrilar, e resultando no aumento da maciez da carne.

Toohey et al. (2014) verificou a eficácia da aplicação do extrato bruto de kiwi na maciez de carne bovina. Três tratamentos (carne injetada com solução contendo o extrato; carne injetada apenas com água; e apenas a carne) foram avaliados quanto ao seu efeito sobre a textura da carne. A força de cisalhamento para romper as fibras musculares das carnes injetadas com extrato bruto de kiwi foi significativamente menor ($P < 0,001$) quando comparadas aos resultados obtidos para os demais tratamentos. Entre as amostras de carne e de carne injetada com água não houve diferença significativa ($P \geq 0,001$).

3.4 Processamento e qualidade da carne de frango: características físico-químicas e sensoriais

A adição de ingredientes e aditivos alimentares, e diferentes formas de preparo permitem modificar as características físico-químicas, tecnológicas e sensoriais da carne de aves, tais como retenção de água, capacidade emulsificante da gordura e a textura, entre outras (KIRMACI; SINGH, 2012).

Os sais, como cloreto de sódio e os fosfatos, frequentemente utilizados no processamento de carnes e derivados, em determinadas concentrações influenciam a distribuição de cargas na superfície das moléculas das proteínas presentes na matriz cárnea e podem alterar seu ponto isoelétrico. Esse efeito aumenta a separação entre as cadeias das proteínas e favorece a ligação dos íons carregados negativamente presentes no meio com as cadeias protéicas de carga positiva, incrementando assim a força repulsiva entre elas. Da mesma maneira, a estrutura tridimensional das proteínas se abre, expondo um maior número de cargas para ligação com as moléculas de água presentes no meio, diminuindo a perda de água quando a carne é submetida ao aquecimento (TONBERG 2005; OFFER e KNIGHT 1988). O cloreto de sódio e fosfato (mais comumente o tripolifosfato de sódio), são dois dos ingredientes mais comuns em salmouras de marinar. O sal é um dos

conservantes alimentares mais antigos utilizados, e quando incluído nas formulações de carne de aves pode melhorar o sabor do produto, aumentar a retenção de água e inibir o crescimento de microrganismos (PEARSON; GILLET, 1996).

O processo de marinação, que consiste em aplicar uma salmoura contendo sal, aditivos e substâncias aromáticas na carne por injeção e, ou imersão associado ao massageamento mecânico, corresponde à técnica empregada, geralmente, para melhorar o sabor, textura e suculência de cortes cárneos (ALVARADO; MCKEE, 2018). A marinação por injeção associada ao massageamento e movimentação mecânica dos cortes de carne facilita a penetração e distribuição uniforme da salmoura de marinar, favorecendo a maior extração das proteínas (ALVARADO; MCKEE, 2018; SMITH; YOUNG, 2004) e, em geral, a carne marinada apresenta mais suculência e uma redução da perda de umidade durante o cozimento.

O uso de proteases extraídas do gengibre durante a marinação de cortes cárneos foi relatada por Tsai et al., (2012) que verificaram a degradação de várias proteínas citoesqueléticas de carne de pato, o que poderia ter levado a um rompimento da integridade da estrutura muscular e explicar a melhoria da textura da carne tratada com extrato de gengibre.

Os métodos de cocção aplicados no processamento e preparo, também, influenciam a qualidade final da carne e produtos derivados em relação à digestibilidade, palatabilidade, segurança e em termos nutricionais (TORNBERG, 2005). O cozimento de um corte ou produto cárneo entre 74 e 80 °C, até que seu centro geométrico atinja 72 °C, melhora sua coesão, consistência e firmeza, e contribui para sua segurança microbiológica (TOLDRÁ, 2010). O calor pode fazer com que as proteínas percam sua conformação nativa promovendo desnaturação proteica, pelo fornecimento de energia cinética e aumento da agitação das moléculas, resultando no rompimento de forças intramoleculares mais fracas que mantêm as proteínas interligadas. A alteração da conformação nativa da proteína pelo desdobramento da molécula tende a aumentar com o aumento da temperatura, principalmente acima de 80 °C, e há uma perda da estrutura secundária e terciária, fazendo com que a proteína perca sua estrutura tridimensional (DAVIS; WILLIAMS, 1998). Essas alterações induzidas pelo calor modificam a qualidade da carne incluindo alterações na cor, maciez e capacidade emulsificante entre outras propriedades (SUMAN et al., 2013; SUN et al., 2011; CHRISTENSEN et al., 2000).

Dos atributos sensoriais da carne, a cor e textura juntamente com maciez e suculência são as características que mais influenciam a decisão de compra dos consumidores (GOLI et al 2014; KIRMACI et al., 2012). Métodos analíticos, instrumentais (medição da força de cisalhamento, índice de fragmentação miofibrilar, determinação da capacidade de retenção de água e da perda de peso pós cocção, dentre outras técnicas), assim como a análise sensorial com consumidores ou provadores treinados podem ser utilizadas para avaliação dessas características da carne (BATTAGLIA, 2016).

A força de cisalhamento pelo uso do equipamento Warner-Bratzler (WBSF) é o protocolo específico para carne desenvolvido por Bratzler, (1954) ainda é utilizado para avaliar a maciez. A análise é conduzida em um dispositivo exclusivamente mecânico, composto por uma lâmina de aço com espessura de aproximadamente 1,01 mm e um orifício triangular no meio, encaixada em uma esquadria, na qual desliza-se a amostra através da lâmina promovendo o cisalhamento. A força máxima exercida durante o teste é tomada como a força de cisalhamento, que por sua vez é relacionada com a maciez da amostra (WHEELER; SHACKELFORD; KOOHMARAIE, 1997).

O índice de fragmentação de miofibrilas (IFM), que consiste na quantificação do grau de hidrólise de proteínas estruturais da carne a partir da análise da turbidez de determinada solução contendo uma concentração de proteínas preestabelecida, também é utilizado como medida indicativa da maciez da carne, bem como do seu amaciamento *post-mortem* (DAVEY; GILBERT, 1969 e OSLON; PARRISH, 1977). O IFM é comparado a um valor na faixa de 30 a 100, sendo que valor próximo de 100 indica forte ruptura da estrutura miofibrilar por homogeneização, sendo indicativo de músculos macios. Já os índices próximos a 30 indicam músculo menos macios ou duros (RAMOS; GOMIDE, 2007).

Já a capacidade de retenção de água, que mede a capacidade da carne para manter toda ou parte da sua própria água durante a aplicação de forças externas como corte, aquecimento, moagem ou prensagem, pode ser medida mecanicamente aplicando-se uma força através de centrifugação e sucção e medindo-se o líquido exsudado. A perda de água pós cocção da carne, que influencia o peso final da carne, pode ser medida aquecendo-se a amostra e medindo a perda de água após o cozimento da carne (ELMASRY; SUN, 2010).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios de Microbiologia de Alimentos, Tecnologia de Alimentos e Química de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEAL) do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAIE) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre, ES.

4.1. Planejamento experimental e análise estatística dos dados

Os experimentos de marinação dos cortes por injeção dos líquidos de marinar contendo o extrato em diferentes concentrações foram realizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições ($n=4$). Os experimentos para avaliar o efeito da marinação e da temperatura de cocção na maciez da carne, medida pela técnica da força de cisalhamento, e perda de peso pós cocção dos peitos de frango foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial com quatro repetições ($n=4$). As análises foram realizadas em triplicata (Figura 2). Os dados foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância e quando significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância. O teste de aceitação sensorial e o teste de intenção de compra foram analisados estatisticamente utilizando análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa RStudio versão 3.5.1 de livre acesso (RSTUDIO TEAM, 2018).

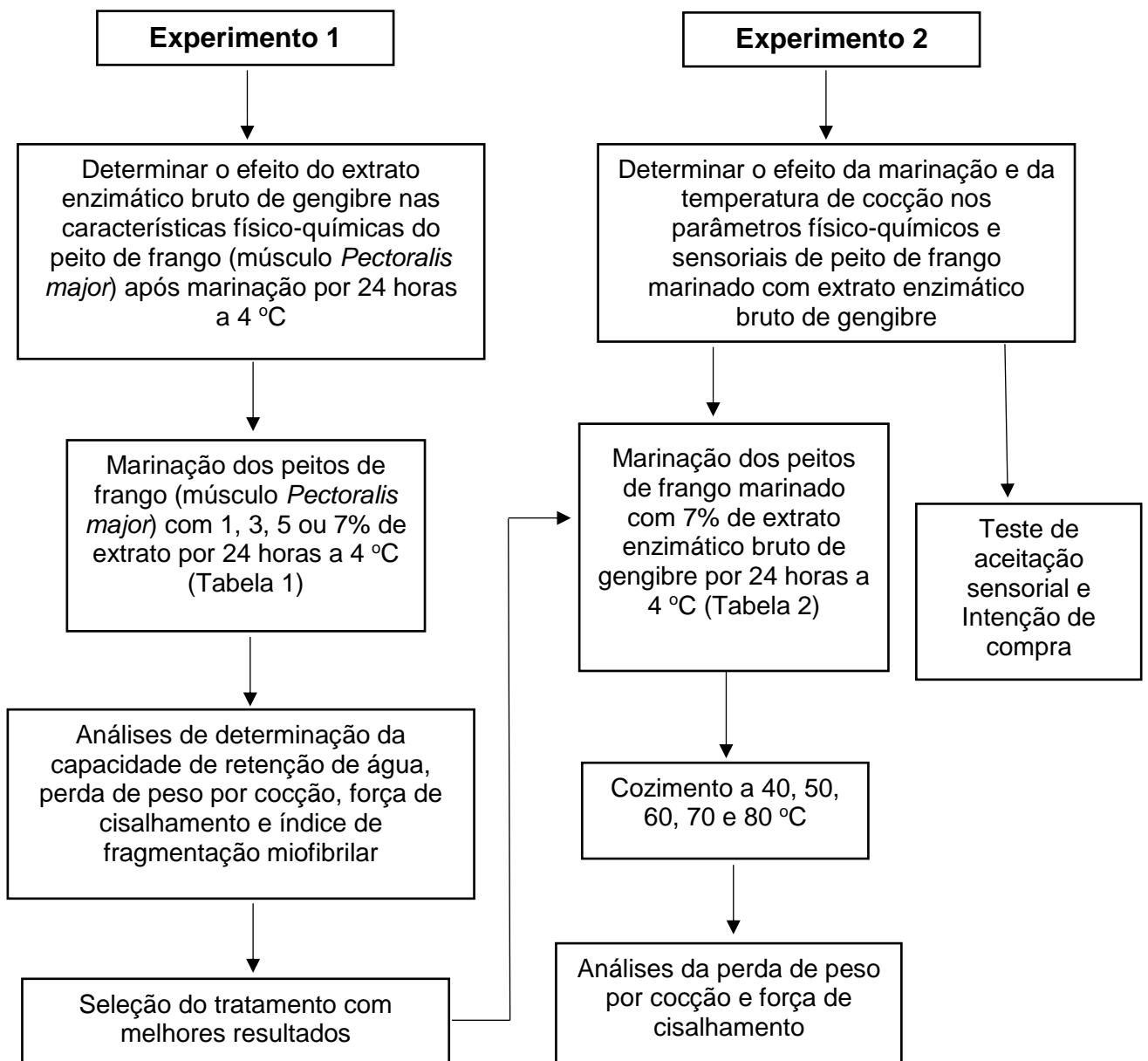


Figura 2: Descrição dos experimentos

4.2. Metodologia

4.2.1. Obtenção do extrato bruto de gengibre

Os rizomas de gengibre da variedade *Zingiber officinale* Roscoe foram obtidos em estágio de maturação comercial, entre os meses de Abril e Julho de 2018, no comércio local de Alegre, Espírito Santo. Os rizomas, provenientes de Santa Maria de Jetibá, localizada no Espírito Santo (latitude 20° 02' 26" Sul, longitude 40° 44' 46" Oeste " e altitude de 700 m), foram lavados com água corrente, cortados em pedaços de 10 cm de comprimento, com casca, e submetidos a um banho ultrassônico, (Ultrasonic Power IGBT - CTA do Brasil) com frequência de 25 kHz, potência de 900 W e volume de 10 litros (com densidade de potência de 90 W/L), a 35 °C por 40 minutos, com base em testes preliminares (dados não publicados).

Após sonicação, baseado no procedimento padrão de extração descrito por Nafi et al. (2013), foram pesados 100 g de rizomas, após lavagem e fatiamento, e homogeneizados em 200 mL de tampão fosfato 100 mM, pH 7,0. O homogeneizado foi filtrado com o auxílio de uma tela de nylon. Em seguida, o filtrado foi centrifugado a 10500 g (centrífuga Marca HERMLE modelo Z 326 K) a 4 °C por 30 minutos.

4.2.2. Obtenção dos cortes de frango

Os peitos de frango de corte (músculo *Pectoralis major*) foram obtidos de um produtor de frangos no município de Alegre, Espírito Santo. Com base na metodologia de Novello et al. (2009), a coleta foi feita entre 2-3 horas após abate e desossa da carcaça. Em seguida, as amostras foram imediatamente armazenadas em caixa térmicas com gelo e transportadas até o Laboratório de Tecnologia de Alimentos (DEAL/CCAUE/UFES). Os cortes foram, então, armazenados e mantidos por 24 horas a 4 °C em BOD. Foram medidos o pH, capacidade de retenção de água e cor dos peitos de frango e os valores usados como indicadores da qualidade da carne utilizada como sistema modelo nos estudos. Essas análises foram realizadas para garantir a utilização de uma carne com características RNF (*Reddish Pink, Firm and Non-Exudative*) nos experimentos. Foram realizadas também análises para determinação da umidade e proteínas dos cortes.

4.2.3. Marinação dos peitos de frango

Inicialmente, conforme apresentado na Figura 2, para avaliação do efeito do extrato bruto de gengibre na hidrólise das proteínas miofibrilares (Experimento 1),

adicionaram-se 20% de líquido de marinar, manualmente com auxílio de seringa, injetadas perpendicularmente à fibra muscular (Tabela 1).

Tabela 1: Composição do líquido de marinar e dos peitos de frango marinados sem extrato bruto de gengibre (tratamento controle) e com extrato bruto de gengibre nas concentrações de 1, 3, 5 ou 7%

Ingredientes		Tratamentos				
		M ₁ *	**M ₂	**M ₃	**M ₄	**M ₅
Peito de frango (<i>Pectoralis major</i>)		80	80	80	80	80
Líquido de marinar	Água a 4 °C	16,6	15,6	13,6	11,6	9,6
	Extrato bruto de gengibre (%)	-	1	3	5	7
	Cloreto de sódio (%)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	Tripolifosfato de sódio (%)	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
	Ácido eritórbico (%)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	Condimentos (%)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

* M₁: Formulação base de marinado

**M₂; M₃; M₄; M₅: Peitos de frango marinados com extrato bruto de gengibre.

Como tratamento controle teve-se o peito de frango (músculo *Pectoralis major*) sem adição de extrato. O tamanho e peso dos peitos de frango foram padronizados em cortes de 4x4x4cm e aproximadamente 25 g. O líquido de marinar foi preparado e injetado nos cortes, seguido de massageamento manual, envase em embalagens de polietileno, e armazenamento a 4 °C por 24 horas em BOD com base na metodologia descrita por Brossi (2007) com modificações (Figura 3). O líquido de marinar foi preparado adicionando-se água a 4 °C, cloreto de sódio, tripolifosfato de sódio, ácido eritórbico e condimentos, tendo como referência o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Aves Temperadas contido na Instrução Normativa n.º 17, de 29 de maio de 2018 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento para definição da formulação base e na RDC N° 272, de 14 de março de 2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos.



Figura 3: Preparo dos peitos de frango marinados: (a) Padronização dos cortes de peitos de frango; (b) Injeção do líquido de marinar.

Após armazenamento, foram retiradas amostras de cada tratamento (Tabela 1) para determinação da capacidade de retenção de água, índice de fragmentação miofibrilar, força de cisalhamento e perda de peso pós cocção. Os resultados das análises, quando significativos estatisticamente pelo teste F, foram comparados pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Entre os tratamentos testados (Tabela 1) foi selecionada a concentração que apresentou melhores resultados para as variáveis analisadas (capacidade de retenção de água, perda de peso por cocção, força de cisalhamento e índice de fragmentação miofibrilar), e, posteriormente, foi avaliado o efeito da marinação e temperatura na maciez e perda de peso pos cocção dos peitos de frango, conforme apresentado anteriormente na Figura 2. Nessa etapa (Experimento 2), os cortes de peito de frango (Tabela 2) foram submetidos ao aquecimento a 40 °C/ 35 minutos, 50 °C/ 40 minutos, 60 °C/ 45 minutos, 70 °C/ 50 minutos e 80 °C/ 55 minutos. O tempo de aquecimento a cada temperatura foi determinado previamente, medindo-se o tempo necessário para se atingir a respectiva temperatura no centro geométrico dos cortes. Após aquecimento, os cortes foram resfriados à temperatura ambiente por 60 minutos e retiradas amostras para determinação de perda de peso pós cocção e força de cisalhamento.

Tabela 2: Peitos de frango marinados com e sem adição de extrato de gengibre.

Ingredientes		Peitos de frango			
		1*	2	3	4
Peito de frango (<i>Pectoralis major</i>)		80	80	100	80
Líquido de marinar	Água a 4 °C	16,6	20	-	9,6
	Extrato bruto de gengibre (%)	-	-	-	7 %
	Cloreto de sódio (%)	1,5	-	-	1,5
	Tripolifosfato de sódio (%)	0,4	-	-	0,4
	Ácido eritórbico (%)	0,5	-	-	0,5
	Condimentos (%)	1,0	-	-	1,0

1: Peito de frango marinado - (* Formulação base de marinado)

2: Peito de frango com injeção de água

3: Peito de frango

4: Peito de frango marinado com 7% de extrato enzimático bruto de gengibre.

4.2.4. Análises físico-químicas

A determinação do pH foi realizada utilizando-se o potenciômetro de bancada, segundo a metodologia 017/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008). A umidade foi determinada pelo método gravimétrico em estufa, a 105 °C, até peso constante (metodologia 012/IV) e o teor de proteínas foi determinado pelo método de Kjeldahl baseado na quantificação do nitrogênio proteico total (metodologia 036/IV), ambas do Instituto Adolfo Lutz (2008). A determinação da cor foi realizada em colorímetro Spectrophotometer CM-5 (Konica Minolta) por leitura direta de reflectância do sistema de coordenadas retangulares “L*” (oscilando de branco 100% a preto 0%), “a*” (componente vermelho +60 a verde -60), “b*” (componente amarelo +60 e azul -60) (HUNTER; HAROLD, 1987).

A capacidade de retenção de água (CRA) foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Naveena et al. (2004) com adaptações, na qual em um tubo de centrífuga foram adicionados 1,5 g de carne e 1,5 mL de solução de NaCl 0,6 M. Os tubos foram homogeneizados com um bastão de vidro por cerca de 1 minuto e mantidos a 4 °C por 15 minutos. Os tubos foram novamente homogeneizados, e em seguida centrifugados (HERMLE modelo Z 326 K) a 3000 g por 25 minutos a 4 °C. A CRA foi calculada de acordo com a Equação 1.

$$CRA = \frac{(P_i - P_f)}{P_i} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde: CRA = Capacidade de retenção de água; P_i = Peso inicial da carne; P_f = Peso final da carne.

A perda de peso pós cocção dos peitos de frango foi determinado pela relação entre os pesos das amostras cozida e crua (BERRY, 1992), de acordo com a Equação 2.

$$\% \text{Perda de peso pós cocção} = \text{Peso cozido} / \text{Peso cru} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

As amostras (Tabela 2) utilizadas para a avaliação de força de cisalhamento foram submetidos ao aquecimento a 40 °C/ 35 minutos, 50 °C/ 40 minutos, 60 °C/ 45 minutos, 70 °C/ 50 minutos e 80 °C/ 55 minutos, e após aquecimento, os cortes foram resfriados à temperatura ambiente por 60 minutos e retiradas amostras para determinação de perda de peso pós cocção e força de cisalhamento.

A análise de força máxima de cisalhamento foi de acordo com a metodologia de Barbanti et al. (2005) com adaptações. A determinação da força de cisalhamento foi realizada por meio de um texturômetro Texture Pro CT, da marca Brookfield, equipado com lâmina de cisalhamento 3,05 mm modelo "V", com 1,016 mm de espessura. A velocidade de subida e descida da lâmina foi de 5 mm/s, tendo como carga de 25 kg. Na determinação da força de cisalhamento das amostras de peito de frango do Experimento 1 (Figura 2), após marinação por 24 horas a 4 °C, as amostras de peito de frango (Tabela 1) foram submetidas à cozimento em forno convencional (Calábria Grill da marca NARDELLI) a 180 °C. A temperatura interna foi monitorada com o auxílio de um termômetro tipo espeto digital da marca Incoterm®. Ao atingir a temperatura interna de 40°C, as amostras foram viradas e mantidas no forno, até atingirem a temperatura de 71°C internamente. Em seguida as amostras de cada tratamento foram resfriadas a temperatura ambiente por cerca de 60 minutos. Foram, então, cortados seis paralelogramos de um centímetro de altura x um centímetro de largura x quatro centímetros de comprimento seguindo a orientação paralela das fibras musculares. O resultado final de cada amostra foi calculado pela média das seis repetições (paralelogramos) de uma mesma amostra e o valor da força de

cisalhamento expresso em Kgf. Na determinação da força de cisalhamento das amostras de peito de frango do Experimento 2 (Figura 2), após marinação por 24 horas a 4 °C, as amostras foram submetidas à cozimento em forno convencional (Calábria Grill da marca NARDELLI) até as respectivas temperaturas (40 °C/ 35 minutos, 50 °C/ 40 minutos, 60 °C/ 45 minutos, 70 °C/ 50 minutos e 80 °C/ 55 minutos) de cada tratamento (Tabela 2). Em seguida os cortes foram resfriados à temperatura ambiente por 60 minutos, seguindo-se o procedimento descrito anteriormente.

Para determinação do índice de fragmentação miofibrilar (IFM) foi utilizado o método da turbidez com base nas metodologias descritas por Culler et al. (1978) e Battaglia (2016) com modificações. Foram realizadas a extração das proteínas miofibrilares dos peitos de frango; determinação da concentração proteica das suspensões de proteínas miofibrilares extraídas; e determinação do IFM das suspensões.

Na etapa de extração das proteínas miofibrilares, para o preparo de 2 L da solução tampão foram utilizados 14,91 g de KCl, 2,72 g de KH_2PO_4 , 3,5 g de K_2HPO_4 , 0,76 g de EDTA, 0,41 g de MgCl_2 . Os reagentes foram dissolvidos em água destilada e o pH foi ajustado para 7,0, utilizando-se solução 1M de NaOH. Em seguida a solução foi transferida para um balão volumétrico de dois litros, para ajuste do volume mantida a 2 °C (BATTAGLIA, 2016). A extração das proteínas miofibrilares foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Culler et al. (1978) adaptada por Battaglia (2016). Com auxílio de um bisturi foram retirados aproximadamente 4 gramas de peito de frango, em duplicata, e picados, tomando-se o cuidado de desprezar partes contendo tecido conjuntivo e gorduras. Em seguida as amostras foram colocadas em tubo de centrífuga de polietileno, adicionados 40 mL de solução de extração a 4°C. O conteúdo foi homogeneizado e centrifugado (centrífuga *Beckman Coulter*, modelo Allegra 25R refrigerada) a 1000 g durante 15 minutos a 4°C. Após centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspenso com adicionais 40 mL de tampão (4°C), com o auxílio de um bastão de vidro. O material foi novamente centrifugado a 1000 g, durante 15 minutos a 4°C. Após centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi mais uma vez suspenso com 10 mL de tampão (4°C) e agitado no vortex até completa homogeneização. O conteúdo foi peneirado em peneira de polietileno para remover fragmentos de tecido conjuntivo e pedaços

maiores. Nos tubos de centrifuga foram novamente adicionados 10 mL de tampão (4°C), agitados e, posteriormente, passados novamente pela peneira de polietileno.

A determinação da concentração proteica das amostras foi realizada pelo Método do Biureto (GORNALL et al, 1949) colocando-se 0,25 mL de suspensão, em duplicata, em tubos de vidro e adicionando 0,75 mL da solução de extração e 4 mL do reagente de biureto. Em seguida, os tubos foram agitados no vortex e mantidos em local escuro por 30 minutos. Após 30 minutos fez-se a leitura da absorbância a 540 nm em cubeta de vidro e espectrofotômetro Evolution 300 (Thermo Scientific). A partir da leitura das amostras e da curva padrão da solução do reagente de biureto, foi calculada a concentração proteica de cada amostra. Para determinação do IFM foram realizadas diluições das suspensões miofibrilares com a solução tampão, para se obter a concentração de 0,5 mg de proteína/mL. Em seguida, as suspensões diluídas foram agitadas em vortex e a absorbância lida a 540 nm em espectrofotômetro Evolution 300 (Thermo Scientific). O índice de fragmentação miofibrilar foi estimado de acordo com a Equação 3 (ZHAO, et al., 2011; CHEN et al., 2006; CULLER et al., 1978).

$$IFM=A_{540} \times 200 \text{ (Equação 3)}$$

4.3 Análise sensorial

No teste de aceitação sensorial foram avaliadas três formulações de marinado com base na formulação descrita na Tabela 1, sendo F₁: peito de frango marinado sem adição de extrato; F₂: peito de frango marinado com adição de 3% de extrato de gengibre ; e F₃: peito de frango marinado com adição de 7% de extrato de gengibre. As formulações foram selecionadas com base nos resultados das análises de índice de fragmentação miofibrilar e força de cisalhamento realizadas do experimento 1 (Figura 2 e Tabela 1).

A análise sensorial foi realizada com 70 julgadores não treinados compostos de 46 mulheres e 24 homens. Utilizou-se escala hedônica de nove pontos para avaliar os atributos de aparência, sabor, textura e impressão global. Aplicou-se também o teste de intenção de compra (Figura 4). As amostras foram apresentadas para cada julgador de maneira aleatória e monádica (REIS e MINIM, 2010), logo após processamento dos marinados.

Para preparo das amostras, os peitos de frango foram injetados com solução de marinar e armazenadas por 12 horas em BOD a 4 °C. Após armazenamento os marinados foram submetidos ao cozimento, utilizando-se forno convencional a 220 °C, até que temperatura interna das amostras atingisse 72 °C (aproximadamente 40 minutos). Todas as sessões foram feitas em uma sala com painéis sensoriais de cinco cabines a 21 °C, equipadas com iluminação fluorescente branca (230 V, 35 W). Amostras foram codificadas em três dígitos, e aquecidas antes de serem servidas em um forno microondas por 20 segundos (KUMAR et al., 2015).

Os devidos cuidados éticos instituídos pelo Conselho Nacional da Saúde foram respeitados. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Campus de Alegre (CEP/Alegre) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) com o parecer nº 2.798.326 de 2018.

Ficha de avaliação sensorial

Nome: _____ Data: _____ Amostra: _____

Prove a amostra e indique sua opinião em relação à aparência, aroma, sabor, textura e impressão global, de acordo com a escala abaixo:

- | | |
|-------------------------------|-------------------------|
| 9 – gostei muitíssimo | Aparência: _____ |
| 8 – gostei muito | Aroma: _____ |
| 7 – gostei moderadamente | Sabor: _____ |
| 6 – gostei ligeiramente | Textura _____ |
| 5 – nem gostei/ nem desgostei | Impressão Global: _____ |
| 4 – desgostei ligeiramente | |
| 3 – desgostei moderadamente | |
| 2 – desgostei muito | |
| 1 – desgostei muitíssimo | |

Assinale qual seria sua atitude em relação à compra do produto.

- eu certamente compraria este produto
- eu provavelmente compraria este produto
- tenho dúvidas se compraria ou não este produto
- eu provavelmente não compraria este produto
- eu certamente não compraria este produto

Comentários: _____

Figura 4: Ficha aplicada no teste de aceitação e no teste de intenção de compra

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Indicadores de qualidade da carne de frango

A combinação dos parâmetros de cor e valor de pH medidos após 24 horas do abate do animal auxiliam na identificação da qualidade da carne indicando se apresentam características de RNF (“Reddish Pink, Firm and Non-Exudative”), PSE (“Pale, Soft and Exudative”) e DFD (“Dark, Firm and Dry”) que, por sua vez, podem influenciar na capacidade de retenção de água, solubilidade e rendimento dos cortes de frango. Em relação aos parâmetros de pH e L* (luminosidade), os peitos de frango podem ser classificados como RNF para valores de pH entre 5,7 e 6,1 e L* entre 46 e 53 (DADGAR et al., 2012; BARBUT et al., 2005).

Em relação à qualidade, os peitos de frango utilizados como sistema modelo no presente trabalho podem ser classificados como RNF, considerando os valores medidos de pH de $5,99 \pm 0,13$ e L* (luminosidade) de $52,76 \pm 1,08$. Em relação às demais características, os peitos de frango apresentaram umidade (%) de $75,17 \pm 1,17$; teor de proteína (%) de $23,73 \pm 0,45$; e capacidade de retenção de água (%) de $42,00 \pm 3,10$.

5.2 Efeito do extrato bruto de gengibre na capacidade de retenção de água e perda por cocção de peito de frango marinado

A tendência da diminuição de perda de peso por cocção após tratamento enzimático pode ser consequência da degradação das proteínas da carne, que promove um afrouxamento da estrutura miofibrilar. Dada esta maior fragmentação, surgem espaços intracelulares nos quais a água fica retida, diminuindo a perda de água quando submetida a tratamento térmico (CRUZ, 2018; NAVEENA e MENDIRATTA, 2001).

No presente trabalho, houve uma diminuição significativa da perda de peso pós cocção ($P < 0,05$) dos tratamentos nos quais houve injeção de extrato bruto de gengibre em relação ao tratamento sem adição de extrato. Entre os tratamentos com adição de extrato, apenas o peito de frango com 1% de extrato bruto de gengibre diferiu significativamente dos demais ($P < 0,05$) pelo Teste de Tukey, apresentando maior perda de peso pós cocção. Em relação à capacidade de retenção de água observou-se um aumento significativo ($P < 0,05$) para os peitos de frango com adição de extrato

em relação ao tratamento sem extrato, independentemente da concentração de extrato testada (Tabela 3).

Tabela 3: Médias dos valores de perda de peso pós cocção (%) e capacidade de retenção de água (CRA) dos peitos de frango marinados sem extrato de gengibre e com 1%, 3%, 5% ou 7% de extrato enzimático bruto de gengibre

Tratamentos	Perda de peso pós cocção (%)	CRA (%)
Peito de frango marinado sem extrato	37,65 ^a	27,57 ^b
Peito de frango marinado com 1% de extrato	25,20 ^b	39,86 ^a
Peito de frango marinado com 3% de extrato	10,92 ^c	39,03 ^a
Peito de frango marinado com 5% de extrato	10,46 ^c	43,36 ^a
Peito de frango marinado com 7% de extrato	7,95 ^c	48,48 ^a

*Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \geq 0,05$).

Bhaskar et al.,(2006), assim como no presente estudo, obtiveram valores significativamente menores de perdas de peso por cocção em peito (25,5%) e coxa de frango (29,7%) marinados com solução contendo sal (1,15%), açafraão em pó (0,15%) e pasta de gengibre (1,3 %) em comparação aos cortes sem marinação (36,2 e 39,9%, respectivamente). Pawar et al., (2007) verificaram menores valores de perda de água pós cocção de amostras tratadas com gengibre em relação ao controle em marinados de carne de cabrito adicionados de extrato enzimático bruto de gengibre em concentrações 1, 3, 5 e 7%, juntamente com 600 mg.L⁻¹ de ácido ascórbico, cloreto de sódio (2%) e tripolifosfato de sódio (0,5%).

Tanto a menor perda de peso da carne pós cocção como a maior capacidade de retenção de água dos peitos de frango marinados com extrato de gengibre em relação àquele marinado sem extrato pode ser resultado da degradação enzimática de proteínas citoesqueléticas da carne pela ação das enzimas proteolíticas presentes no extrato de gengibre.

Grande parte da água no interior das fibras musculares é mantida especialmente dentro das miofibrilas (estima-se que até 85% da água total presente no músculo), principalmente devido a forças capilares em função do arranjo estrutural dos miofilamentos finos e grossos no interior das miofibrilas. No músculo durante o *rigor mortis*, a interação entre os miofilamentos finos e grossos, formando o complexo actomiosina, promove o encurtamento do sarcômero e reduz o espaço entre os miofilamentos. Conseqüentemente, diminui o espaço para acomodação das moléculas de água no interior das miofibrilas e a água é forçada para o espaço extramiofibrilar favorecendo a perda de água. Com a ação de enzimas proteolíticas há degradação das proteínas citoesqueléticas, como a desmina, e alteração do arranjo estrutural das fibras musculares, com o surgimento de espaços intracelulares favorecendo a retenção de água nos espaços formados. Assim, o processo de degradação das miofibrilas pelas enzimas, pode resultar na mobilização de água na miofibrila aumentando a capacidade de retenção de água da carne (RAWDKUEN et al., 2013; TOLDRÁ, 2010; HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S. M., 2005; OFFER, G.; COUSINS, 1992).

Kumar et al., (2015) estudaram o efeito do extrato bruto de gengibre em carne de frango em relação aos seus atributos de qualidade em três grupos experimentais: controle (sem adição de extrato); marinado com 20% de suco de limão; e marinado com 50% extrato de gengibre. Os autores observaram o aumento da capacidade de retenção de água nas amostras com a adição de enzimas proteolíticas ($31,20 \pm 0,57\%$ para o controle; $37,30 \pm 1,09\%$ para a amostra com o marinado de limão; e a $34,40 \pm 0,11\%$ para o marinado com gengibre).

Naveena e Mendiratta (2001) encontraram valores semelhantes em carne de galinhas poedeiras adicionadas de extrato enzimático bruto de gengibre em diferentes concentrações (1%, 3% e 5%,). As amostras foram marinadas por 24 horas a 4 ± 1 °C e assadas até a temperatura interna de 70 °C. Os autores relataram que os valores médios de capacidade de retenção de água foram significativamente ($P < 0,05$) mais altos nas carnes tratadas com 3% extrato de gengibre em comparação com o controle. Os autores atribuíram o aumento da capacidade de retenção de água nas amostras tratadas com gengibre, à capacidade de extração da proteína, e também à redução no número de bandas de proteínas, evidenciado pelo padrão eletroforético das amostras analisadas.

5.3 Efeito do extrato bruto de gengibre no índice de fragmentação miofibrilar (IFM) e textura de peito de frango marinado

Pesquisas sugerem que a hidrólise da fração proteica miofibrilar contribui significativamente para o amaciamento da carne (BAILEY; LIGHT, 1989). As proteínas miofibrilares, como desmina, titina, nebulina e troponina-T, mantêm a integridade estrutural das miofibrilas e a degradação destas através da proteólise causa enfraquecimento dessa estrutura (TONBERG, 2005). A integridade da miofibrila é responsável por alterações *post-mortem* do músculo, que levam a modificações na maciez da carne, podendo contribuir com até 50% dessas modificações. Assim, o grau de hidrólise miofibrilar, que pode ser aferido por meio da determinação do IFM, pode alterar a maciez da carne, sendo um dos fatores responsáveis pela variação de textura da carne (MAGGIONI et al., 2012; CULLER et al., 1978). Estudos como aquele realizado por Oslon; Parrish, (1977) comprovam uma alta correlação entre os métodos de determinação do IFM e da força de cisalhamento (WBSF), sendo que para maiores valores de IFM são observados menores valores de textura medida pela força de cisalhamento (Kgf).

Observou-se, no presente estudo, que os cortes de peito de frango marinados com 7% de extrato enzimático bruto de gengibre apresentaram IFM significativamente maiores ($P < 0,05$) quando comparados aos demais tratamentos. Em relação à força de cisalhamento todos os tratamentos diferiram entre si ($P < 0,05$), sendo que os peitos de frango com 7% de extrato apresentaram menor força de cisalhamento (0,97 Kgf) que os demais tratamentos. A redução na força de cisalhamento para romper as fibras musculares dos peitos de frango marinados com 7% de extrato foi de aproximadamente 71,4% em relação aos peitos de frango marinado sem adição de extrato, indicando uma melhoria na maciez dos cortes (Tabela 4).

Tabela 4: Médias dos valores do índice de fragmentação miofibrilar (IFM) e da força de cisalhamento (Kgf) dos peitos de frangos sem adição de extrato e com adição de 1%, 3%, 5% ou 7% de extrato enzimático bruto de gengibre

Tratamentos	IFM	Força de Cisalhamento (kgf)
Peito de frango marinado sem extrato	30,98 ^c	3,40 ^a
Peito de frango marinado com 1% de extrato	28,45 ^c	1,77 ^b
Peito de frango marinado com 3% de extrato	40,60 ^{bc}	1,21 ^c
Peito de frango marinado com 5% de extrato	58,06 ^b	1,07 ^d
Peito de frango marinado com 7% de extrato	80,13 ^a	0,97 ^e

* Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \geq 0,05$).

Também se observou uma correlação negativa significativa ($P < 0,01$) entre as variáveis testadas ($r = -0,62$), indicando que um aumento no valor de IFM resultou na redução do valor da força de cisalhamento (Figura 5).

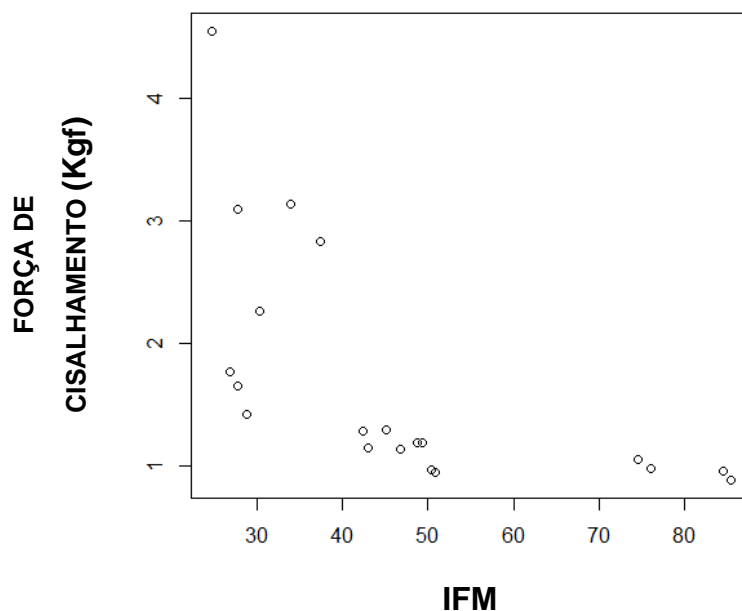


Figura 5: Correlação de Pearson entre o índice de fragmentação miofibrilar (IFM) e a força de cisalhamento (Kgf).

Han et al. (2009) em seu estudo com carne de carneiro injetada com extrato de kiwi fresco demonstraram, pela técnica de SDS-PAGE, que a degradação de proteínas miofibrilares está associada a um menor valor de força de cisalhamento e pode ser usada como um indicativo para o nível de maciez da carne. Um maior IFM está relacionado com uma redução na força de cisalhamento da carne, e uma menor força de cisalhamento necessária para rompimento das fibras é indicativa de carnes com menor resistência ao corte, o que pode ser associado a maior maciez (WHEELER et al., 1997; OLSON et al., 1976).

Um aumento no índice de fragmentação miofibrilar de carne de camelo após injeção das soluções enzimáticas contendo bromelina, ficina ou papaína nas concentrações de 50 e 100 mg/L quando comparadas ao controle foi encontrado por Maqsood et al. (2018). Foi observada uma degradação significativa da miosina nas miofibrilas extraídas desses cortes, principalmente, nas carnes tratadas com 100 mg/L de papaína e também naquelas tratadas com 100 mg/L de bromelina. Nas carnes tratadas com 50 mg/L de ficina, observou-se uma ligeira degradação das miofibrilas. Os autores concluíram que o tratamento com enzimas a 100 mg/L demonstrou um bom potencial para amaciamento da carne de camelo, sendo a papaína mais eficaz entre todos.

Naveena et al. (2001) e Naveena et al. (2004) associaram a redução de 46% nos valores de força de cisalhamento em carne de galinhas poedeiras e carne de búfalo, respectivamente, ao aumento da extração das proteínas miofibrilares e à evidente redução no número de bandas proteicas no perfil eletroforético de proteínas (miofibrilares e sarcoplasmáticas), devido à aplicação de 5% de extrato enzimático bruto de gengibre por aspensão. Cruz (2018) relatou a alteração da força de cisalhamento de peitos de frango após injeção de 5% de extrato bruto de gengibre e armazenamento por 24 horas a 4 °C, com redução de aproximadamente 37,7% da força de cisalhamento necessária para rompimento das fibras musculares, em relação a peitos de frango sem injeção de extrato.

5.4 Efeito da marinação com extrato bruto de gengibre e da temperatura na perda de peso pós cocção e textura de peito de frango

No presente trabalho, a interação entre os fatores marinação com e sem adição de extrato de gengibre (Peito de frango com injeção de 20% líquido de marinar; Peito

de frango com a injeção de 20% de água; Peito de frango; e Peito de frango com injeção de 20% líquido de marinar contendo 7% de extrato bruto de gengibre) e temperatura (40, 50, 60,70 e 80 °C) foi significativa ($P < 0,05$) pelo Teste F para perda de peso pós cocção (Tabela 5).

Tabela 5: Médias da perda de peso pós-cocção (%) dos peitos de frango com e sem extrato de gengibre (Peito de frango com injeção de 20% líquido de marinar; Peito de frango com a injeção de 20% de água; Peito de frango; e Peito de frango com injeção de 20% líquido de marinar contendo 7% de extrato bruto de gengibre) para a interação entre fatores marinação e temperatura de cocção

Perdas de peso por cocção (%)					
Fator marinação com e sem extrato de gengibre	Fator Temperatura de cocção				
	40 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C
Peito de frango	18,76 ^{aD}	25,11 ^{bC}	34,17 ^{aB}	57,43 ^{aA}	57 ^{aA}
Peito de frango com a injeção de 20% de água	17,27 ^{aE}	26,69 ^{bD}	33,46 ^{aC}	40,96 ^{bB}	52,96 ^{bA}
Peito de frango marinado	13,14 ^{bC}	32,04 ^{aB}	32,89 ^{aB}	33,23 ^{cB}	51,38 ^{bA}
Peito de frango marinado com 7% de extrato bruto de gengibre	3,38 ^{cD}	10,13 ^{cC}	15,70 ^{bB}	14,61 ^{dB}	40,74 ^{cA}

* Desdobramento do fator “Marinação com e sem extrato de gengibre” dentro do fator “Temperatura de cocção”: Médias seguidas das mesmas letras minúsculas na mesma coluna não diferem significativamente pelo Teste de Tukey, $P \geq 0,05$.

** Desdobramento do fator “Temperatura de cocção” dentro do fator “Marinação com e sem extrato de gengibre”: Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na mesma linha não diferem significativamente pelo Teste de Tukey, $P \geq 0,05$.

Em geral, no presente estudo, foi observada uma maior perda de água pós cocção dos peitos de frango com o aumento da temperatura de cocção, entretanto, nos peitos de frango marinados com 7% de extrato de gengibre essa perda foi menor. O aumento da temperatura promove alterações na estrutura da carne que pode favorecer a perda de água. Porém um efeito positivo da marinação com extrato de gengibre é que a perda de água mesmo tendendo a ser maior com o aumento da temperatura, foi menor em relação aos demais tratamentos. Analisando-se o efeito da atividade enzimática do extrato (fator “Marinação com e sem extrato de gengibre”) na perda de água pós cocção dos peitos de frango dentro do fator “Temperatura de cocção”, no presente estudo observou-se que o peito de frango marinado com extrato de gengibre apresentou menores porcentagem de perda ($P < 0,05$) em relação aos demais tratamentos (Tabela 5). Esse efeito pode ser verificado ao se comparar a

média obtida a 60 °C do peito de frango marinado com extrato (15,70%), com as perdas pós cocção do peito de frango marinado (32,89%); do peito de frango mais água (33,46%); e do peito de frango (34,17%). A 70 °C todos os tratamentos diferiram entre si ($P < 0,05$), sendo 14,61%; 33,23%; 40,96%; e 57,43%, respectivamente. A 40 °C a perda de água pós cocção do peito de frango marinado com gengibre foi de 3,38% diferindo significativamente ($P < 0,05$) do peito de frango marinado (13,14%), do peito de frango mais água (17,27%) e do peito de frango (18,76%). Já as perdas do peito de frango e do peito com água, nessa temperatura, não diferiram entre si ($P \geq 0,05$) pelo teste de Tukey (Tabela 5). Possivelmente, o aquecimento dos peitos de frangos além de alterar a estrutura da carne, pode ter influenciado a atividade das proteases presentes no extrato de gengibre, promovendo hidrólise das proteínas da carne, que contribuiu para maior extração e capacidade de retenção de água das proteínas da carne e favoreceu a menor perda de água pós cocção observada.

Com o aumento da temperatura há mudanças estruturais na carne, como o encolhimento do tecido conectivo, encolhimento das fibras musculares, desnaturação e agregação das proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas que, conseqüentemente, afetam a capacidade da fibra em reter água, podendo resultar no aumento da perda de água no cozimento. Na carne, entre 40 e 60 °C ocorre o encolhimento transversal das fibras musculares aumentando o espaço, que já existe desde o *post mortem* do animal (*rigor mortis*), entre as fibras e o endomísio ao redor dessas fibras. Entre 60 e 70 °C, inicia-se o encolhimento longitudinal e em conjunto da rede de tecido conectivo e das fibras musculares. Esse encolhimento causa o aumento da perda de água da carne durante o cozimento e tende a aumentar com o aumento da temperatura (TONBERG, 2005). Naveena; Mendiratta (2001) relataram que o surgimento de espaços intracelulares causados pela degradação das proteínas pela ação das proteases do gengibre, promove maior fragmentação miofibrilar e um afrouxamento da estrutura miofibrilar e, conseqüentemente, maior retenção de água na carne.

A temperatura além de exercer influência na estrutura da carne, também exerce influência na atividade proteolítica das enzimas presentes no extrato de gengibre. A atividade ótima do extrato bruto de gengibre determinada por Cruz (2018) foi a 60 °C. Em relação à atividade enzimática, a autora observou um aumento próximo a 40 °C, atingindo a atividade máxima a 60 °C e a partir de 70 °C o extrato manteve 55,4% de sua atividade residual, reduzindo para 32,4% a 80 °C. A atividade ótima do extrato

enzimático bruto de gengibre determinada por Thompson et al. (1973) e Nafi et al. (2013) também foi a 60 °C e a partir de 70 °C, observaram uma queda na atividade da enzima justificada por esses autores como uma aparente desnaturação enzimática. Obuz et al. (2004) avaliaram o efeito do uso de diferentes temperaturas (40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 e 80°C) nas perdas de peso por cocção dos músculos *Longissimus dorsi*, *Biceps femoris* e *Deep pectoralis* em carne bovina e observaram que as perdas aumentaram à medida em que foi aumentada a temperatura, sendo mais pronunciadas nas temperaturas acima de 60 °C.

Em relação à força de cisalhamento, a interação entre os fatores marinação com e sem adição de extrato de gengibre e temperatura também foi significativa ($P < 0,05$) pelo teste F. Em geral, os peitos de frango marinados com e sem extrato apresentaram menores valores em relação aos demais tratamentos (Tabela 6).

Tabela 6: Médias da força de cisalhamento (Kgf) dos peitos de frango submetidos a diferentes tratamentos (Peito de frango com injeção de 20% líquido de marinar; Peito de frango com a injeção de 20% de água; Peito de frango; e Peito de frango com injeção de 20% líquido de marinar contendo 7% de extrato bruto de gengibre) para a interação entre fatores marinação e temperatura de cocção

Força de cisalhamento (Kgf)					
Fator marinação com e sem extrato de gengibre	Fator Temperatura de cocção				
	40 °C	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C
Peito de frango com a injeção de 20% de água	16,71 ^{aCD}	14,58 ^{aD}	18,19 ^{aC}	25,64 ^{aB}	53,87 ^{aA}
Peito de frango	13,92 ^{bD}	12,03 ^{aB}	14,35 ^{bB}	22,81 ^{bA}	24,43 ^{cA}
Peito de frango marinado com 7% de extrato bruto de gengibre	7,98 ^{cBC}	6,12 ^{bC}	9,62 ^{cB}	8,72 ^{cBC}	19,84 ^{dA}
Peito de frango marinado	7,22 ^{cC}	7,44 ^{bC}	8,45 ^{dC}	14,14 ^{dB}	31,54 ^{bA}

* Desdobramento do fator “Marinação com e sem extrato de gengibre” dentro do fator “Temperatura de cocção”: Médias seguidas das mesmas letras minúsculas na mesma coluna não diferem significativamente pelo Teste de Tukey, $P \geq 0,05$.

** Desdobramento do fator “Temperatura de cocção” dentro do fator “Marinação com e sem extrato de gengibre”: Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na mesma linha não diferem significativamente pelo Teste de Tukey, $P \geq 0,05$.

Analisando-se o comportamento do efeito da atividade enzimática do extrato de gengibre (fator Marinação) na força de cisalhamento dos peitos de frango dentro

do fator temperatura, como anteriormente, verificou-se que o efeito da marinação com extrato de gengibre foi mais pronunciado na temperatura de 70 °C, cujo valor (8,72 Kgf) foi inferior e diferiu significativamente ($P < 0,05$) em relação aos demais tratamentos nos quais não se adicionou extrato (Figura 6). Ressalta-se, ainda, que nessa temperatura todos os tratamentos diferiram entre si ($P < 0,05$), sendo 14,14 Kgf para o peito de frango marinado sem extrato, 22,81 Kgf para o peito de frango e 25,64 kgf para o peito de frango mais água. Na temperatura de 60 °C, que corresponde à temperatura ótima de atividade do extrato bruto de gengibre, a força de cisalhamento do peito de frango marinado com extrato (9,62Kgf) e do peito de frango marinado sem extrato (8,45 Kgf) não diferiram entre si ($P \geq 0,05$) pelo Teste de Tukey, porém diferiram do peito de frango com água (18,19 Kgf) e do peito de frango (14,35 Kgf).

Conforme relatado anteriormente, no presente estudo observou-se que os cortes de peito de frango marinados com 7% de extrato enzimático bruto de gengibre apresentaram índices de fragmentação miofibrilar (IFM) significativamente maiores ($P < 0,05$) e valores de força de cisalhamento significativamente menores quando comparados aos demais tratamentos (Tabela 4). Dessa forma, a hidrólise da fração miofibrilar das proteínas, devido à atividade proteolítica do extrato enzimático bruto de gengibre após armazenamento dos peitos de frango por 24 horas a 4 °C, associado ao efeito da temperatura de cocção podem ter contribuído em conjunto com a temperatura para os resultados encontrados no presente estudo.

5.5. Teste de aceitação e Teste de intenção de compra dos peitos de frango marinados com gengibre

A alteração da estrutura de peitos de frango pela ação da temperatura e de proteases presentes no extrato bruto de gengibre foi verificada no presente estudo como relatado anteriormente. Em relação à força de cisalhamento, a princípio, verificou-se uma melhora na maciez dos peitos de frango marinados com extrato em relação aos demais. Entretanto, a diminuição dos valores de força de cisalhamento, pode resultar em efeito negativo em termos sensoriais. Weiss (2010), Miller et al. (1989) e Ashie (2002) demonstraram que algumas proteases vegetais aplicadas no amaciamento de carnes, como a papaína e bromelina, não possuem especificidade pelas proteínas presentes na carne e apesar de contribuírem para seu amaciamento, alteram significativamente a estrutura da carne, gerando um amaciamento além do

desejável e uma força de cisalhamento demasiadamente mole. Além disso, o gengibre é uma especiaria normalmente utilizada no preparo de carnes marinadas. Entretanto, quando submetido à cocção ocorrem reações que intensificam seu aroma e sabor pungente, e dependendo das concentrações adicionadas, podem alterar alguns atributos sensoriais da carne de forma negativa (LABELL 1987).

A Tabela 7 apresenta as médias das notas hedônicas atribuídas por julgadores no teste de aceitação sensorial dos peitos de frango marinados sem adição de extrato e com adição de 3 e 7 % de extrato de gengibre.

Tabela 7: Média hedônicas do teste de aceitação sensorial de marinados de peito de frango sem adição de extrato e com adição de 3 e 7% de extrato bruto de gengibre para os atributos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global

Tratamentos	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Impressão global
Peito de frango marinado sem extrato de gengibre	7,18 ^{ns}	7,60 ^{ns}	7,81 ^b	7,45 ^b	7,48 ^b
Peito de frango marinado com 3% de extrato de gengibre	7,42 ^{ns}	7,70 ^{ns}	8,17 ^a	7,98 ^a	7,88 ^a
Peito de frango marinado com 7% de extrato de gengibre	7,28 ^{ns}	7,62 ^{ns}	7,61 ^b	7,72 ^{ab}	7,60 ^{ab}

* Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem significativamente ($P \geq 0,05$) pelo Teste de Tukey.

ns: não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade

No teste de aceitação realizado no presente estudo, para os atributos aparência e aroma, não houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo as médias atribuídas classificadas na escala hedônica de nove pontos na categoria “gostei moderadamente” (Tabela 7). Em relação ao sabor o peito de frango marinado com 3% de extrato de gengibre obteve maior nota dos julgadores (8,17) quando comparado ao peito de frango marinado sem extrato (7,81) e ao peito de frango marinado com 7% de extrato (7,61). Já entre esses tratamentos não houve diferença significativa

($P \geq 0,05$) pelo Teste de Tukey. A avaliação dos julgadores para o peito de frango marinado com 3% de extrato o classificou como “gostei muito” pela escala hedônica de nove pontos, enquanto os demais tratamentos foram classificados com “gostei moderadamente”. Esses resultados indicam que a adição do extrato a uma concentração maior (7%) não alterou o sabor do peito de frango marinado e que a marinação com 3% de extrato melhorou o sabor dos cortes.

Para a textura o peito de frango marinado com 3% de extrato diferiu significativamente ($P < 0,05$) do peito de frango marinado sem extrato e teve maior aceitação entre os julgadores, porém não diferiu ($P \geq 0,05$) do peito de frango marinado com 7% de extrato (Tabela 7).

O efeito negativo verificado por alguns autores como relatado anteriormente em carnes adicionadas de proteases vegetais pode ser resultante de um grau excessivo de hidrólise das proteínas da carne, fragmentando excessivamente as miofibrilas e demais proteínas da carne e, conseqüentemente, tornando-a muito mole. Esse efeito negativo não foi relatado pelos julgadores nos peitos de frangos marinados com extrato de gengibre no presente estudo (Tabela 7), e pode ser justificado pela maior aceitação do peito de frango marinado com 3% de extrato.

Avaliação semelhante àquela para o atributo textura foi observado para a impressão global, reforçando o efeito positivo do extrato de gengibre nos atributos sensoriais dos peitos de frango, principalmente, quando adicionada a concentração de 3% de extrato no líquido de marinar (Tabela 7).

De maneira geral, os resultados do teste de aceitação sensorial para os atributos avaliados demonstraram que os 70 julgadores gostaram moderadamente dos frangos marinados tanto sem quanto com extrato bruto de gengibre, destacando-se que o peito de frango marinado com 3% de extrato apresentou as maiores notas em relação a sabor, textura e impressão global. Ressalta-se que para o atributo sabor, esse tratamento foi classificado com “gostei muito”, o que confirma o potencial de aplicação de extrato de gengibre para melhoria da qualidade de peitos de frangos marinados.

Naveena et al (2004) comparou o efeito de diferentes proteases vegetais no amaciamento de carne de búfalo por 48 horas a 4 °C com 4 diferentes tratamentos (2% de extrato desidratado de cucumis, 5% de extrato bruto aquoso de gengibre, 0,2% de papaína desidratada comercial e um controle com apenas água destilada). Em

relação aos atributos sensoriais sabor, suculência, maciez e aceitação global os resultados obtidos foram significativamente ($P < 0,01$) maiores para todos os tratamentos em relação ao controle. Contudo as amostras tratadas com extrato de bruto de gengibre apresentaram melhores notas para aparência, sabor, maciez e aceitabilidade global. Naveena e Mendiratta (2001) estudaram o efeito do extrato bruto aquoso de gengibre em carne de galinhas poedeiras. A maciez e a suculência das carnes avaliadas pelos julgadores foram maiores nas amostras tratadas com extrato de gengibre, sendo que os autores concluíram que a concentração de 3% de extrato de gengibre apresentou os melhores resultados para o amaciamento das carnes.

Quanto à intenção de compra, a maioria dos consumidores (67/70) “certamente comprariam” ou “possivelmente comprariam” o peito de frango marinado com 3% de extrato de gengibre. Dos 70 consumidores, 29 certamente compraria, 19 provavelmente compraria, 12 tinham dúvidas se comprariam, 7 possivelmente não comprariam e 2 certamente não comprariam, sendo maiores as proporções de consumidores (69,57%) que comprariam em relação àqueles que certamente ou possivelmente não comprariam (27,14%). O peito de frango com adição de 7% de extrato de gengibre obteve maiores frequências nas regiões “provavelmente não compraria” e “certamente não compraria” (Figura 6).

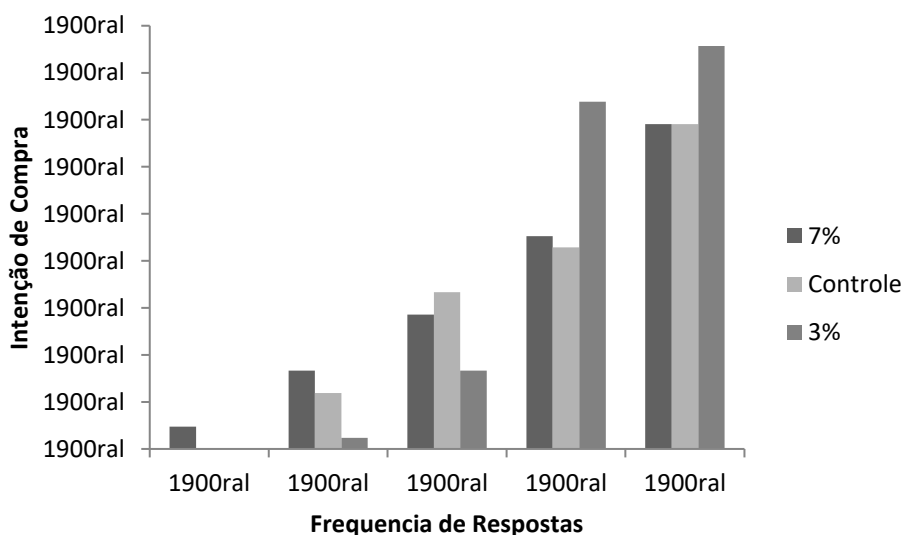


Figura 6: Distribuição da frequência de respostas dos consumidores em função da intenção de compra, (1=certamente não compraria, 2=possivelmente compraria, 3=tenho dúvidas se compraria, 4=possivelmente compraria, 5=certamente compraria)

6. CONCLUSÃO

A aplicação do extrato enzimático bruto de gengibre utilizando o músculo *Pectoralis major* como sistema modelo apresentou resultados positivos, permitindo verificar que a sua aplicação na carne promoveu maior fragmentação das miofibrilas, redução da força de cisalhamento sem alterar excessivamente a maciez da carne, menores perdas no rendimento dos cortes, com menor perda de peso pós cocção e aumento da capacidade de retenção de água. A temperatura de cocção e a atividade proteolítica do extrato bruto de gengibre promoveram, em conjunto, um efeito positivo sobre a maciez e rendimento do peito de frango. Conclui-se, portanto, que o extrato de gengibre promoveu uma melhora na qualidade do peito de frango marinado.

Os resultados do teste de aceitação sensorial também demonstraram o potencial de aplicação de extrato de gengibre para melhoria da qualidade de peitos de frangos marinado em relação aos atributos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global. Ressalta-se que os peitos de frango marinados com 3% de extrato enzimático bruto de gengibre tiveram maior aceitação em relação ao sabor e impressão global e no teste de intenção de compra foram avaliados como “certamente compraria” ou “possivelmente compraria” pela maioria dos consumidores.

7. REFÊRENCIAS:

ALVARADO, C.; MCKEE, S. Marination to Improve Functional Properties and Safety of Poultry Meat. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, p. 113-120, 2007.

ASHIE, I.N.A.; SORENSEN, T.L; NIELSEN, P.M. Effects of Papain and a Microbial Enzyme on Meat Proteins and Beef Tenderness. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 2138-2142, 2002.

BAILEY, A.J.; LIGHT, N.D. **Connective tissue in meat and meat products**. Elsevier Science Publisher, Ltd., Essex, U.K, 1989.

BATTAGLIA, C. T. **Comparação de métodos para determinação da maciez e do comprimento do sarcômero de carne bovina**. 2016. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 68f.

BARBANTI, D.; PASQUINI, M. Influence of cooking conditions loss and tenderness of raw and marinated chicken breast meat. **LWT**, v. 38, p. 895-901, 2005.

BARBUT, S.; ZHANG, L.; MARCONE, M. Effects of pale, normal, and dark chicken breast meat on microstructure, extractable proteins, and cooking of marinated fillets. **Poultry Science**, v. 84, p. 797-802, 2005.

BEKHIT, A.E.A.; HOPKINS, D.L.; GEESINK, G.; BEKHIT, A.A.; FRANKS, P. Exogenous proteases for meat tenderization. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n.8, p. 1012-1031, 2013.

BHASKAR, N.; SACHINDRA, N.; MODI, V.; SAKHARE, P.; MAHENDRAKAR, N. Preparation of proteolytic activity rich ginger powder and evaluation of its tenderizing effect on spent-hen muscles. **Journal of Muscle Food**, v. 17, p. 174–184, 2006.

BRATZLER, L. J. Using the Warner-Bratzler Shear. In: **Proceedings Reciprocal Meat Conference** v. 7, p. 154-160, 1954.

BROSSI, C. **Qualidade de carne de frango: efeito do estresse severo pré-abate, classificação pelo uso da cor e marinação.** 2007. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, 108f.

BORTOLUZZI, R.C. Marinados. In: OLIVO, R. **O mundo do frango: cadeia produtiva da carne de frango.** Criciúma: Ed. do autor, 2006. p.473-480

CHRISTENSEN, M; PURSLOW, P.P.; LARSEN, L.M. The effect of cooking temperature on mechanical properties of whole meat, single muscle fibres and perimysial connective tissue. **Meat Science**, v. 55, p.301–307, 2000.

CRUZ, P. L. **Caracterização parcial do extrato enzimático bruto de gengibre e seu efeito na fragmentação de miofibrilar em carne de frango.** 2018. Dissertação (Mestrado) –Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES, 75f.

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.

DAVIS, P. J.; WILLIAMS, S. C. Protein modification by thermal processing. **Allergy**, v. 53, P 102–105, 1998.

DADGAR, S.; CROWE, T.G.; CLASSEN, H.L.; WATTS, J.M.; SHAND, P.J. Broiler chicken thigh and breast muscle responses to cold stress during simulated transport before slaughter. **Poultry Science**, v. 91, n. 6, p. 1454-1464, 2012.

DALAGNOL, L. M. G. **Avaliação do uso do ultrassom n extração de mosto de uva Cabernet Sauvignon e na atividade enzimática.** 2017. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio grande do Sul, Porto Alegre, RS, 134f.

ELMASRY, G.; SUN, D. **Meat Quality Assessment Using a Hyperspectral Imaging System**. Capítulo 6, p 175-240, 2010.

FRATERMAN, S., Zeiger, U., Khurana, T. S., Wilm, M., & Rubinstein, N. A. Quantitative proteomics profiling of sarcomere associated proteins in limb and extraocular muscle allotypes. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 6, p. 728–737, 2007.

GOLI, T.; BOHUON, P.; RICCI, J.; COLLIGNAN, A. Evolution of pH during immersion of meat protein matrices in acidic marinades. **Meat Science**. v. 90, n.3, p. 618–623, 2014.

GOLL, D. E.; ROBSON, R. M.; STROMER, M. H. Skeletal muscle, nervous system, temperature regulation, and special senses, In: Duke's physiology of domestic animals, 11 ed., p. 548-580 (SWENSEN, M. J.; REECE, W. O., ed.). Ithaca: Cornell University Press, 1984.

GORNALL, A.G., BARDAWILL, C.J., DAVID, M.M. Determination of serum protein by means of biuret reaction. **Journal of Biological Chemistry**, v. 177, p.751-766, 1949.

HA, M.; BEKHIT, A.E.A.; CARNE, A.; HOPKINS, D.L. Characterisation of commercial papain, bromelain, actinidin and zingibain protease preparations and their activities toward meat proteins. **Food Chemistry**, v. 134, p. 95-105, 2012.

HA, M.; BEKHIT, A.E.A.; CARNE, A.; HOPKINS, D.L. Characterisation of commercial papain, bromelain, actinidin and zingibain protease preparations and their activities toward meat proteins. **Food Chemistry**, v. 136, p. 989-998, 2013.

HERRERA-MENDEZ, C.H.; BECILA, S.; BOUDJELLAL, A.; OUALI, A. Meat ageing: reconsideration of the current concept. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 394-405, 2006.

HOPKINS D.L., GEESINK G.H. Protein degradation post mortem and tenderisation. In *Applied Muscle Biology and Meat Science*, pp. 149-173, (Ed. Du, M. and McCormick, R.), CRC Press, Taylor & Francis Group, USA, 2009.

HUNTER, R.S.; HAROLD, R.W. **The Measurement of Appearance**, 2nd ed., John Wiley and Sons, Inc. New York, NY, USA, 1987.

HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S.M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. **Meat Science**, Barking, v. 71, p. 194-204, 2005.

ICHIKAWA, Y.; SASA, H.; MICHI, K. Purification of ginger protease. **Journal of Japan Society of Nutrition and Food Sciences**, v. 26, p. 377–383, 1973.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3ed. São Paulo: IMESP, 2005.

JOO, S.T., KIM, G.D., HWANG, Y.H., RYU, Y.C. Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. **Meat Science**, v. 95, p. 828–836, 2013.

KIM, M.; HAMILTON, S.E.; GUDDAT, L.W.; OVERALL, C.M. Plant collagenase: Unique collagenolytic activity of cysteine proteases from ginger. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects**. v. 1770, p. 1627–1635, 2007.

KIRMACI, B.; SINGH, R. K. Quality of chicken breast meat cooked in a pilot-scale radio frequency oven. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 14, p. 77–84, 2012.

KOOHARAIE, M.; SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L.; LONERGAN, S.M. DOUMIT, M.E. A muscle hypertrophy condition in lamb (callipyge): characterization of effects on muscle growth and meat quality traits. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 73, p. 3596-3607, 1995.

KUMAR, Y.; SINGH, P.; TANWAR, V.K.; PONNUSAM, P, SINGH, P K and Shukla P. Augmentation of quality attributes of chicken tikka prepared from spent hen meat with lemon juice and ginger extract marination. **Nutrition and Food Science**, v., 45, n.4, p.606-615, 2015.

LANA, A.; ZOLLA, L. Proteolysis in meat tenderization from the point of view of each single protein: A proteomic perspective. **Journal of Proteomics**, v. 147, p. 85-97, 2016.

LAWRIE, R.A; LEDWARD, D.A. **Lawrie's Meat Science**. 6th Edition, Woodhead, Cambridge, p. 11-30, 2006.

LAWSON, M.A. The role of integrin degradation in post-mortem drip loss in pork. **Meat Science**, Barking, v. 68, p. 559-566, 2004.

LEE, S. H.; JOO, S. T.; RYU, Y. C. Skeletal muscle fiber type and myofibrillar proteins in relation to meat quality. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 166–170, 2010.

LISTRAT, A.; LEBRET, B.; LOUVEAU, I.; ASTRUC, T.; BONNET, M.; LEFAUCHEUR, L.; PICARD, B.; BUGEON, J. How Muscle Structure and Composition Influence Meat and Flesh Quality. **The Scientific World Journal**, v. 2016(2016), p. 1 – 14, 2016.

MA, H.; HUANG, L.; JIA, J.; HE, R; LUO, L.; ZHU, W. Effect of energy-gathered ultrasound on Alcalase, *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 18, p.419-424, 2011.

NAVEENA, B.M.; MENDIRATTA, S.K. Tenderisation of spent hen meat using ginger extract. **British Poultry Science**, v. 42, n.3, p. 344-349, 2001.

NAVEENA, B.M.; MENDIRATTA, S.K. Tenderisation of spent hen meat using ginger extract. **British Poultry Science**, v. 42, n.3, p. 344-349, 2001.

NAFI, A.; LING, F.H.; BAKAR, J.; GHAZALI, H.M. Partial Characterization of an Enzymatic Extract from Bentong Ginger (*Zingiber officinale* var. Bentong). **Molecules**, v. 19, p. 12336-12348, 2014.

NOVELLO, D.; MARQUES, A.; TONETO, E. R. L.; POLLONIO, M. A. R. Atributos da qualidade funcional de peito de frango injetado com cloreto de sódio e cálcio. **Alimentos e nutrição**, v.20, n.3, 2009.

MA, H.; HUANG, L.; JIA, J.; HE, R; LUO, L.; ZHU, W. Effect of energy-gathered ultrasound on Alcalase. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 18, p.419-424, 2011.

MAQSOOD, S.; KUSAIMAH, M.; GANI, A.; ABUSHELAIBI, A. Degradation of myofibrillar, sarcoplasmic and connective tissue proteins by plant proteolytic enzymes and their impact on camel meat tenderness. **Journal Food Science Technology**, v. 55(9), p. 3427–3438, 2018.

MILLER, A.J.; STRANGE, E.D.; WHITING, R.C. Improved tenderness of restructured beef steaks by a microbial collagenase derived from *Vibrio B-30*. **Journal of Food Science**, v. 54(4), p. 855-857, 1989.

OBUZ, E. et al. Beef longissimus lumborum, biceps femoris, and deep pectoralis Warner-Bratzler shear force is affected differently by endpoint temperature, cooking method, and USDA quality grade. **Meat Science**, v. 68, n. 2, p. 243–248, 2004.

OFFER, G.; COUSINS, T. . The mechanism of drip production – formation of 2 compartments of extracellular-space in muscle postmortem. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.58, p.107–116, 1992.

OSLON, G. D.; PARRISH, C. D. Relationship of myofibril fragmentation index to measures of beefsteak tenderness. **Journal. Food Science**, v, 42.p, 506-509, 1977.

SMITH, D. P.; YOUNG, L. L. Processing, products, and food safety marination pressure and phosphate effects on broiler breast fillet yield, Tenderness, and Color. **Poultry Science**, v. 86, p. 2666–2670, 2007.

SOBRAL, M. M. C.; CUNHA, S. C.; FARIA, M. A.; MARTINS, Z. E.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Influence of oven and microwave cooking with the addition of herbs on the exposure to multi-mycotoxins from chicken breast muscle. **Food Chemistry**, v. 276, n.15. p. 274–284, 2018.

SULLIVAN, G.A., CALKINS, C.R. Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low-connective tissue. **Meat Science**. v. 85. n. 4. p. 730-734. 2010.

SUN, X. D.; HOLLEY, R. A.; Factors influencing gel formation by myofibrillar proteins in muscle foods. **Comprehensive Reviews in Food Science Food Safety**. v. 10. p. 33–51 2011.

SUMAN, S. P.; JOSEPH, P.; Myoglobin chemistry and meat color. **Science Technology**, v. 4, p. 79–99, 1998.

PEARSON, A.M.; GILLETT, T.A. **Processed meats**. 3rd ed. New York: Chapman and Hall, 1996. chap 11, p. 291-310.

PUOLANNE E, HALONEN M. Theoretical aspects of water-holding in meat. **Meat Science**. v. 86. p. 151–65, 2010.

OUALI, A.; TALMANT, A. Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. **Meat Science**, Barking, v. 28, p. 331-348, Jul. 1990.

RAO, M.B.; TANKSALE, A.M.; GHATGE, M.S.; DESHPANDE, V.V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, n. 62, p. 597-635, 1998.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: Fundamentos e Metodologias**. 1ª Reimpressão. Viçosa: Editora UFV, 2007, 599p.

REIS, R. C.; MINIM, V. P. R. Teste de aceitação. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 2nd. ed. Viçosa: Editora UFV, 2010. cap. 3, p. 66-82.

RSTUDIO TEAM, RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA. Disponível em: <<http://www.rstudio.com/>>, Acesso em 10 /12 /2018.

RAWDKUEN, S.; JAIMAKREU, M.; BENJAKUL, S. Physicochemical properties and tenderness of meat samples using proteolytic extract from *Calotropis procera* latex. **Food Chemical**, v. 36, n. 2, p. 909–916, 2013.

THOMPSON, E.H.; WOLF, I.D.; ALLEN, C.E. Ginger rhizome: A new source of proteolytic enzyme. **Journal of Food Science**, v. 38, p. 652–655, 1973.

THOMPSON, J.M.; PERRY, D.; DALY, B.; GARDNER, G.E.; JOHNSTON, D.J.; PETHICK, D.W. Genetic and environmental effects on the muscle structure response *post-mortem*. **Meat Science**, Barking, v. 74, p. 59-65, Sept. 2005.

TOLDRA, F. (2010). Handbook of meat processing. Wiley-Blackwell. 23 February 2010

TOOHEY, E. S.; KERR, M. J.; VEN, R. Van De; HOPKINS, D. L. The effect of a kiwi fruit based solution on meat traits in beef *m. semimembranosus* (topside). **Meat Science**. v. 88, n. 3, p. 468–471, 2011.

TONBERG, E. Biophysical aspects of meat tenderness. **Meat Science**, v. 43, p. 175-191, 2005.

TSAI, L.; YEN, N.Y.; CHOU, R.R. Changes in Muscovy duck breast muscle marinated with ginger extract. **Food Chemistry**, v. 130, p. 316-320, 2012.

U-CHUPAJ, J.; MALILA, Y.; GAMONPILAS, C.; KIJROONGROJANA, K.; PETRACCI, M.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W. Differences in força de cisalhamento properties of cooked caponized and broiler chicken breast meat. **Poult Science**. v .96. p. 2491–500. 2017.

VLAHOVA-VANGELOVA, D.; DRAGOEV, S. Marination: effect on meat safety and human health. A review. Bulg. J. **Agricultural Sciences.**, 20: 503-509 Bulgarian Journal of Agricultural Science, 20 (No 3) 2014, 503-509 Agricultural Academy, 2014.

VOLPATO, G. **Otimização do processamento de peito de frango cozido.** 2005. Dissertação de Mestrado – Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 109f.

WANG, W. W.; MENG, T.T.; GUO, D. Z.; HAI-LE, M. A.; CAO, Y.; WANG, W.X. **Research progress on ultrasonic biological effect of food processing,** Science Technol Food Ind. 2015.

WHEELER, T.L.; SHACKELFORD, S. D.; JOHNSON, L.P.; MILLER, M.F.; MILLER, R.K.; KOOHMARAIE, M. A comparison of Warner-Bratzler shear force assessment within and among institutions. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2423–2432, 1997.

YU, Z. L.; ZENG, W.C.; ZHANG, W.H.; LIAO, X. P.; SHI, B. Effect of ultrasound on the activity and conformation of α -amylase, papain and pepsin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, p. 930–936, 2014.

ZHAO, G.; ZHOU, M. ZHAO, H.; CHEN, X.; XIE, B.; ZHANG, X.; HE, H.; ZHOU, B.; ZHANG, Y. Tenderization effect of cold-adapted collagenolytic protease MCP-01 on beef meat at low temperature and its mechanism. **Food Chemistry**, v. 134, p. 1738-1744, 2012.