**Universidade de São Paulo
Instituto de Química de São Carlos**

Larissa Chirino de Almeida

**Identificação de compostos voláteis importantes para o aroma da carne
assada de frangos suplementados com β -ácidos do lúpulo**

São Carlos

2018

Larissa Chirino de Almeida

Identificação de compostos voláteis importantes para o aroma da carne assada de frangos suplementados com β -ácidos do lúpulo

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Orgânica e Biológica

Orientador: Prof. Dr. Stanislaw Bogusz Junior

São Carlos

2018

DEDICATÓRIA

À minha família

Aos meus pais Fatima Regina Sarti de Almeida e Manoel Chirino de Almeida que sempre me incentivaram em meus estudos.

Ao meu irmão João Vitor Chirino de Almeida que sempre me incentivou a continuar quando a vontade de desistir parecia maior e à minha irmã Emanuelle Chirino de Almeida, pelos momentos alegres.

Ao meu grande amigo, Seiti Inoue Venturini por compartilhar seu conhecimento comigo e ser presença constante nesta etapa com amor e paciência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder a vida e condições para realização deste trabalho.

À minha família, meus pais e meus irmãos por todo apoio emocional e financeiro.

Aos meus amigos que aos poucos se tornaram também uma família nesse tempo de convivência em São Carlos, Cíntia Rejane Consonni, Marina Destro, Tainah Castro, Matheus Rocha, Fernando Himeno, Marina Branco e Mariane Azevedo.

Aos meus colegas de laboratório Renato Durello, Stephano Marques, Lucas Silva,

Letícia Marques, Pamela Grizotto, Thais Bonafini e Kaique Perez, que me auxiliaram muito nesta jornada científica compartilhando conhecimento e companhia que foram essenciais para que meus momentos no laboratório se tornassem agradáveis.

Ao Grupo de Oração Universitário São Carlos, pelos momentos que me fortaleceram. A todos os meus amigos que contribuíram para este trabalho e que acreditaram em mim.

As agências de fomento Fapesp e CNPq.

Ao Instituto de Química de São Carlos (IQSC) e à Universidade de São Paulo (USP) pela infraestrutura.

À ESALQ-USP pela disponibilização das amostras de carne de frango e à parceria com o professor Dr. Daniel Rodrigues Cardoso do IQSC-USP.

Ao professor Dr. Stanislaw Bogusz Junior pela dedicação e por me aceitar como sua primeira orientada de Pós-Graduação na Universidade de São Paulo.

A todos os funcionários da USP, em especial os funcionários do IQSC, da CAQI, aos técnicos dos laboratórios de Química Inorgânica e Analítica, Silmara França Buchviser, Thiago Abrahão Silva e Jennifer Chauca Michiko Yokoya, Ivan Ferrari e pessoal da seção de alunos, administração, biblioteca, serviços de limpeza etc.

EPÍGRAFE

“O essencial é invisível aos olhos, só se vê bem com o coração”

Antonie de Saint-Exu

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi identificar os compostos voláteis importantes para o aroma da carne assada de frangos suplementados com diferentes concentrações de β -ácidos do lúpulo. Para isso, 1440 frangos foram alimentados *ad libitum* durante 42 dias com dietas basais suplementadas com 0 (controle negativo), 30, 60 e 120 mg kg⁻¹ de β -ácidos do lúpulo. Após

42 dias de experimento, os animais foram abatidos e o músculo *Pectoralis major* (peito do frango) foi retirado, separado do tecido conjuntivo, da pele e da gordura subcutânea. Os filés de peito foram imediatamente congelados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises. Nos filés foi determinado o perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização em chama (GC-FID). A carne dos animais suplementados com 120 e 30 mg kg^{-1} de β -ácidos foram os que apresentaram as maiores quantidades de ácidos graxos insaturados de cadeia longa como o araquidônico ($\text{C}_{20:4-\text{n}6}$) e docosaenoico ($\text{C}_{22:6-\text{n}3}$). Um maior teor destes ácidos graxos na carne de frango é desejado do ponto de vista nutricional, pois estes compostos possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias benéficas para saúde humana. Para a caracterização dos voláteis da carne assada foi desenvolvido e otimizado um procedimento de extração dos voláteis da carne por microextração em fase sólida através do *headspace* (HS-SPME) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS). Para isso, foram testados cinco tipos de materiais de recobrimento de fibras comerciais de SPME quanto a sua capacidade de extração dos voláteis da carne assada e, para fibra que apresentou maior capacidade de extração (CAR/PDMS), foram otimizados a temperatura e tempo de extração por meio de delineamento composto central rotacional. As condições ótimas de extração foram: temperatura de extração de $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e tempo de extração de 45 min. Foram identificados 70 compostos voláteis na carne assada de frango por GC-MS majoritariamente aldeídos, alcanos, álcoois, ésteres e pirazinas. A análise de componentes principais (PCA) revelou que é possível distinguir as amostras em função da suplementação com β -ácidos, o que indica que os diferentes níveis de suplementação podem originar perfil voláteis distintos na carne assada. O tratamento controle negativo (0 mg kg^{-1} de β -ácidos) foi caracterizado principalmente pela presença de aldeídos e ácidos como octanal, decanal, benzaldeído e ácido n-hexanóico, o tratamento com 30 mg kg^{-1} de β -ácidos foi caracterizado por pirazinas (2,6-dimetil-pirazina e 3-etil,2,5-dimetil-pirazina), o tratamento com 60 mg kg^{-1} de β -ácidos foi caracterizado por uma maior quantidade de álcoois, aldeídos, e furanos (hexanal, 1-octen-3 ol e pentilfurano), enquanto que o tratamento com 120 mg kg^{-1} de β -ácidos foi caracterizado pela presença do composto 2- metil pentanal.

ABSTRACT

The objective of this research was to identify the volatile compounds important for the aroma of chicken roasted meat supplemented with different concentrations of β -acids from hops. A total of 1440 broilers were fed *ad libitum* for 42 days with basal diets supplemented with 0 (negative control), 30, 60 and 120 mg kg⁻¹ of hops β -acids. After 42 days, the animals were slaughtered and the *Pectoralis major* (chicken breast) was removed and separated from connective tissue, skin and from the subcutaneous fat. The breast steaks were immediately frozen at -80 °C until analyses. The fatty acid profile was determined by gas chromatography coupled to flame ionization detector (GC-FID). The animals supplemented with 120 and 30 mg kg⁻¹ of β -acids showed the highest amounts of long chain unsaturated fatty acids, such as arachidonic (C20:4-n6) and docosahexaenoic acid (C22: 6-n3). A higher content of these fatty acids in chicken meat is desired from a nutritional point of view, as these compounds have antioxidant and anti-inflammatory properties beneficial to human health. For the characterization of the chicken roasted meat volatiles, a procedure of extraction of the meat volatiles by headspace solid phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography coupled to the mass spectrometry (GC-MS) was developed and optimized. Five types of SPME commercial fiber coating materials were tested for their ability to extract the volatiles from roasted meat. For the fiber with higher extraction capacity (CAR/PDMS), the temperature and time of extraction were optimized using a central composite rotational design. The optimal extraction conditions were: extraction temperature of 80 °C and extraction time of 45 min. Ninety five volatile compounds were identified in chicken roasted meat by GC-MS, mainly aldehydes, alkanes, alcohols, esters, and pyrazines. Principal component analysis (PCA) showed that it is possible to distinguish samples as a function of β -acid supplementation, which indicates that different levels of supplementation may give rise to distinct volatiles profiles in roasted chicken meat. The negative control treatment (0 mg kg⁻¹ of β -acids) was characterized mainly by the presence of aldehydes and acids such as octanal, decanal, benzaldehyde and n-hexanoic acid, treatment with 30 mg kg⁻¹ of β -acids was characterized by pyrazines (2,6-dimethylpyrazine and 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine) treatment with 60 mg kg⁻¹ of β -acids was characterized by a higher amount of alcohols, aldehydes, and furans (hexanal, 1-octen-3-ol, and pentylfuran), whereas treatment with 120 mg kg⁻¹ of β -acids was characterized by the presence of the 2-methyl pentanal compound.

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura 1 - Produção de carne de frango no Brasil, e seus principais destinos: consumo doméstico e exportação.</u>	14
<u>Figura 2 - Dados de produção de carne de frango nos principais países produtores em milhões de toneladas de 2013 a 2018 (previsão).</u>	15
<u>Figura 3 - Fotografia de uma planta fêmea de lúpulo com flores.</u>	19
<u>Figura 4 - Produção de lúpulo em 2016 em toneladas.</u>	20
<u>Figura 5 - Estrutura química dos β-ácidos do lúpulo.</u>	21
<u>Figura 6 - Fotografia do sistema para extração de voláteis da carne de frango por SPME utilizando béquer encamisado com circulação de água.</u>	26
<u>Figura 7 - Aquecimento em banho-maria dos tubos de ensaios contendo gordura extraída das carnes de frango e o derivatizante BF_3 para obtenção dos ésteres metílicos de ácidos graxos.</u>	29
<u>Figura 8 - Eficiência de extração das fibras de SPME testadas. O resultado é expresso como média das triplicatas para área total das fibras obtidas no GC-MS. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey a 95% de confiança.</u>	31
<u>Figura 9 - Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveis estudadas. Resposta: área total, 2 fatores, 1 bloco, 11 experimentos, erro puro $3,45\text{E}+15$.</u>	33
<u>Figura 10-Superfície de resposta obtida pelo modelo quadrático para resposta de área total do cromatograma= $3,47\text{E}+008 + 2,70\text{E}+07 * t - 8,76\text{E}+07 * t^2 + 1,33\text{E}+08 * T + 5,91\text{E}+06 * T^2 + 4,77\text{E}+07 * t * T$, e gráfico de contorno da otimização das condições de temperatura de extração ($T, ^\circ\text{C}$) e tempo de extração (t, min) dos voláteis de carne assada de frango por HS-SPME.</u>	35
<u>Figura 11-Cromatograma dos voláteis em carne assada de frango por GC-MS empregando as condições ótimas de extração dos voláteis por SPME. a= cromatograma total e b=ampliação da região em destaque.</u>	36
<u>Figura 12-Formação de aldeídos hexanal e 2-octenal a partir da degradação do ácido linoleico.</u>	43
<u>Figura 13-Formação de 1-octen-3-ol a partir da degradação do ácido araquidônico.</u>	44

<u>Figura 14-Formação de 2-pentilfurano a partir da degradação do ácido linoleico.</u>	45
<u>Figura 15-Provável mecanismo para formação 2-etil-3,6-dimetil-pirazina.</u>	46
<u>Figura 16-Rotas de formação de compostos nitrogenados e sulfurosos a partir do 2,4-decadienal com sulfeto de hidrogênio e amônia. Para R= C₄H₉, os produtos formados são I-2-butilpiridina, II-2-pentiltiofeno e III- 2-butil-2H-tiopirano.</u>	48
<u>Figura 17-Degradação de Strecker da cisteína com liberação de sulfeto de hidrogênio, importante intermediário nas reações de formação de compostos sulfurados de impacto no aroma da carne assada de frango.</u>	49
<u>Figura 18-Produtos da reação da D-glicose com uma amina primária.</u>	50
<u>Figura 19-Conversão do produto de Amadori em voláteis e melanoidinas.</u>	51
<u>Figura 20 - Cromatograma dos voláteis em carne assada de frango suplementada com 30 mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo, por SPME e GC-MS com destaque para os compostos majoritários.</u>	59
<u>Figura 21 - Gráfico das amostras ou dos escores (“score graph”) dos dois primeiros componentes principais do PCA dos compostos voláteis do headspace das amostras de carne assada de frango.</u>	67
<u>Figura 22 - Gráfico das variáveis ou dos pesos (“loading graph”) mostrando os dois primeiros componente principais dos compostos voláteis para as amostras de carne assada de frango.</u>	68

LISTA DE TABELAS

<u>Tabela 1- Composição aproximada de diversos tipos de carnes de aves (g/100g).</u>	17
<u>Tabela 2- Composição e conteúdos calculados de dietas experimentais (como base alimentar).</u>	23
<u>Tabela 3- Fatores e níveis utilizados para otimização das condições de extração dos voláteis em carne assada de frango por HS-SPME.</u>	27
<u>Tabela 4- Experimentos realizados no delineamento composto central rotacional na etapa de otimização das condições de extração dos compostos voláteis em carne de frango por HS-SPME.</u>	27
<u>Tabela 5- Condições experimentais e valores de área total dos cromatogramas obtidos na etapa de otimização das condições de extração por SPME dos voláteis em carne assada de frango.</u>	32
<u>Tabela 6- ANOVA pelo método dos mínimos quadrados, para os parâmetros temperatura e tempo de extração dos compostos voláteis de carne assada de frango por HS-SPME para resposta de área total do cromatograma.</u>	34
<u>Tabela 7- Compostos voláteis identificados por HS-SPME e GC-MS em amostra de carne de frango nas condições ótimas de extração para os cinco tipos de fibras testados.</u>	37
<u>Tabela 8- Compostos voláteis identificados por HS-SPME e GC-MS em amostras de carne assada de frango com e sem suplementação de β-ácidos do lúpulo nas condições ótimas de extração. Resultados expressos em porcentagem de relativa área.</u>	53
<u>Tabela 9- Dados correspondentes ao teor de gordura nas amostras de carne de frango suplementadas com β-ácidos de lúpulo expressos em porcentagem, grama de gordura para cada 100 gramas de carne.</u>	62
<u>Tabela 10-Média dos valores de concentração de ácidos graxos para as amostras de carne de frangos suplementados com 0, 30, 60 e 120 mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo. Resultados expressos em mg de ácido graxo por grama de gordura.</u>	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
ANOVA	Análise de Variância (<i>Analysis of Variance</i>)
CAR	Carboxen
DCCR	Delineamento Composto Central Rotacional
DVB	Divinilbenzeno
CEC	Comprimento Equivalente de Cadeia
ESALQ	Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba
EMAG	Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos
FEMA	<i>Flavor and Extract Manufacturers Association of the United States</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FID	Detector de Ionização em Chama (<i>Flame Ionization Detector</i>)
GC	Cromatografia Gasosa (<i>Gas Chromatography</i>)
HS	<i>Headspace</i>
MS	Espectrometria de Massas (<i>Mass Spectrometry</i>)
PA	Poliacrilato
PDMS	Polidimetilsiloxano
PTFE	Politetrafluoretileno
SPME	Microextração em Fase Sólida (<i>Solid Phase Microextraction</i>)
CNA	Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil
OECD	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
EU	União Europeia
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil
Ceapa	Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada
MQr	Média Quadrática dos Resíduos
MQR	Média Dos Quadrados da Regressão
MQfaj	Média Quadrática da Falta de Ajuste
MQep	Média Quadrática do Erro Puro
SQep	Soma Quadrática do Erro Puro
LTPRI	Índices de Retenção de Temperatura Linear Programada
PCA	Análise de Componentes Principais

SUMÁRIO

<u>1. INTRODUÇÃO</u>	14
<u>1.1 Cenário do consumo de carne de frango no Brasil e no mundo</u>	14
<u>1.2 Aspectos sensoriais e de qualidade ligados ao mercado consumidor da carne de frango</u>	16
<u>1.3 Composição química da carne</u>	17
<u>1.4 <i>Humulus lupulus</i> (lúpulo)</u>	19
<u>2. DESENVOLVIMENTO</u>	22
<u>2.1. Objetivo geral</u>	22
<u>2.2 Objetivos específicos</u>	22
<u>2.3 Procedimento Experimental</u>	22
<u>2.3.1. Animais e dieta</u>	22
<u>2.3.2 Procedimento para descongelamento das amostras de carne de frango</u>	24
<u>2.3.3 Determinação dos voláteis da carne assada de frango por SPME</u>	25
<u>2.3.4 Preparo das amostras e escolha da fibra de SPME</u>	25
<u>2.3.5 Otimização da extração dos voláteis da carne assada de frango por SPME</u>	26
<u>2.3.6 Análise dos voláteis de carne assada por GC-MS</u>	27
<u>2.3.7 Perfil de ácidos graxos da carne de frango</u>	28
<u>2.3.8 Extração da gordura da carne de frango</u>	28
<u>2.3.9 Derivatização da gordura a ésteres metílicos de ácidos graxos</u>	29
<u>2.3.10 Análise dos FAME por GC-FID</u>	30
<u>2.3.11 Análise estatística</u>	30
<u>2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	31
<u>2.4.1 Escolha do material de recobrimento da fibra de SPME</u>	31
<u>2.4.2 Estratégia de otimização para extração dos voláteis por SPME</u>	32
<u>2.4.3 Análise dos voláteis por SPME nas condições de extração otimizadas</u>	36
<u>2.4.4 Análise dos compostos voláteis por SPME para as amostras de carne de frango suplementados com beta-ácidos de lúpulo.</u>	53
<u>2.4.5 Determinação do teor de gordura e composição de ácidos graxos em amostras de carne de frango com e sem adição de beta-ácidos de lúpulo.</u>	62
<u>2.4.6 Concentração de ácidos graxos nas amostras de carne de frango com e sem adição de beta-ácidos de lúpulo</u>	64
<u>2.4.7 Análise dos componentes principais (PCA)</u>	67

<u>3. CONCLUSÃO</u>	70
<u>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	71

1. INTRODUÇÃO

1.1 Cenário do consumo de carne de frango no Brasil e no mundo

De todos os tipos de carne consumidos no mundo, a carne de frango se destaca como fonte de proteína de baixo custo e acessível para a maioria das populações (JUNG et al., 2011). A queda no custo da produção da carne de frango e a consequente redução do seu preço no mercado são consequências do crescente desenvolvimento tecnológico da cadeia de produção de carne de aves. Este desenvolvimento está relacionado, entre outras coisas, ao contínuo esforço de padronização da genética, da nutrição e da sanidade dos animais (SANTINI, 2006; CARDENAS, 2007). Outro fator que faz com que a carne de frango ocupe uma posição de destaque no mercado de carnes é que os seus custos de produção não dependem diretamente da importação, uma vez que os insumos base para dieta dos animais como o milho e soja podem ser adquiridos com facilidade no mercado interno brasileiro (SEBRAE, 2008).

Projeções da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) indicam que, em 2019, a produção brasileira de carne de frango representará mais da metade das carnes produzidas no país, superando a produção de carne bovina e suína (CNA, 2016). De acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), até 2020 espera-se que a produção nacional de carne de frango corresponda a 48% do total das exportações mundiais de carne. Na Figura 1 pode-se visualizar as estimativas de produção e exportações de carne de frango pelo Brasil, com destaque para um crescimento esperado na produção de cerca de 22% no período de 2017 (ABPA, 2017).

Figura 1-Produção de carne de frango no Brasil, e seus principais destinos: consumo doméstico e exportação.

Fonte: Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), 2017.

Segundo o relatório anual de 2017 da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), 66% da produção de carne de frango em 2016 foi destinada para o mercado interno e 34% destinada para as exportações, totalizando 12,9 milhões de toneladas de carne de frango produzidas no referido ano. Além disso, vale a pena destacar que o consumo per capita de carne de frango também revela um crescimento ao longo dos anos últimos anos, com um aumento de 37 kg de carne por habitante em 2007 para 41 kg de carne por habitante em 2016 (ABPA, 2017).

Em 2016 a produção de carne de frango no Brasil foi maior do que a produção da China, tornando o Brasil o segundo maior produtor desta proteína animal no mundo, perdendo apenas para os EUA (Figura 2). Essa expressiva mudança no cenário econômico avícola indica que a China está reduzindo a sua produção interna de carne de frango devido ao aumento da migração rural/urbana (TALAMINI & SANTOS FILHO, 2017). Pesquisas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) estimam que em 2018 a produção brasileira de carne de frango deve crescer 3% a mais do que no ano de 2017 (GUTIÉRREZ, 2017). Concomitantemente o Banco Central do Brasil estima que a demanda do mercado interno também aumentará cerca de 1,6%.

Figura 2-Dados de produção de carne de frango nos principais países produtores em milhões de toneladas de 2013 a 2018 (previsão).

Fonte: Adaptado de Anuário Avicultura Industrial, 2018.

Segundo o Anuário da Avicultura Industrial (2018) o ambiente político instável de nosso país, aliado as crises econômicas e casos de corrupção geraram questionamentos no mercado interno e externo com relação à credibilidade da produção de proteínas brasileiras. Cerca de 10 países cancelaram as importações de carnes brasileiras nesse período o que coloca uma séria lista de exigências mínimas a serem cumpridas por nosso país com relação aos nossos parceiros internacionais.

Apesar do cenário econômico e político brasileiro estar afetando o agronegócio, as estimativas do setor avícola são animadoras e se mantém promissoras com relação a demanda internacional por carne de frango.

1.2 Aspectos sensoriais e de qualidade ligados ao mercado consumidor da carne de frango

Existem diversos aspectos que influenciam a decisão de compra do consumidor em relação à carne de frango. Como exemplos, podemos citar a qualidade sensorial (aparência, sabor, aroma e textura), a facilidade de preparo e a segurança (inexistência de resíduos de antibióticos ou de contaminação microbiana) (JAYASENA et al., 2013; AYMERICH; PICOUE; MONFORT, 2008). Dentre estes quesitos a qualidade sensorial merece destaque, pois está diretamente relacionada à composição química dos voláteis presentes na carne

assada de frango, de modo que, conhecer a composição dos voláteis da carne assada é um bom indicador do aroma que os consumidores perceberão ao provar o alimento.

Dentre as características sensoriais anteriormente citadas, o sabor (isto é, o gosto associado ao aroma) é considerado como um dos fatores individuais que mais influenciam os hábitos e preferências do consumidor de carne (SHAHIDI, 1989; SITZ et al., 2005). Neste aspecto, a carne de frango, como todas demais carnes, quando crua apresenta um sabor característico (de soro), levemente salino, parecido com o sangue, e aroma pouco acentuado. É somente após o tratamento térmico que a carne de frango desenvolve efetivamente sua plenitude sensorial. O sabor da carne, adquirido durante o aquecimento, é devido principalmente à reação de Maillard e a beta-oxidação de lipídeos, especialmente os fosfolipídeos (YANG et al., 2015; MOTTRAM, 1998). Resumidamente, a degradação dos ácidos graxos da carne de frango em combinação com os produtos da reação de Maillard originam a maioria dos compostos voláteis que conferem o seu aroma característico. Mas, além da reação de Maillard, outras reações que também contribuem para o sabor da carne de frango são: a decomposição de carboidratos (especialmente a ribose), a degradação da tiamina, a decomposição de nucleotídeos, a caramelização de carboidratos e a pirólise de aminoácidos e peptídeos (SHAHIDI, 1989; SITZ et al., 2005; MOTTRAM, 1998).

O sabor de carne cozida é também dependente de fatores como a origem do animal, idade, raça, sexo, estado nutricional, idade, condições *post-mortem* e método de cozimento da carne (SPANIER et al., 1997; LIU et al., 2012). Considerando que a carne de frango possui a característica de ser rica em fosfolipídios, que apresentam ácidos graxos poliinsaturados em sua composição, esta é uma carne susceptível à oxidação, podendo desenvolver com facilidade sabores desagradáveis (*off-flavors*). Isso faz com que os produtores, processadores, e mesmo os consumidores adotem diferentes tecnologias para prevenir a formação de *off-flavors* em carne de frango (JAYASENA et al., 2013). Como exemplo pode-se citar o uso de antioxidantes sintéticos adicionados na ração das aves, como o di-*terc*-butil metil fenol (BHT), ou misturas como o 2 e o 3-*terc*-butil-4-hidroxianisol (BHA). No entanto estes antioxidantes sintéticos podem deixar resíduos na carne que podem ser tóxicos para o consumidor. Alternativamente, muitas pesquisas têm sido realizadas buscando substituir os antioxidantes sintéticos por extratos naturais de plantas como é o caso dos beta-ácidos do lúpulo que são o alvo da investigação desta dissertação.

1.3 Composição química da carne

A carne de animais, aves e peixes é considerada fonte de uma variedade de micronutrientes que dificilmente são obtidos, em quantidades apreciáveis, somente pela ingestão de alimentos de origem vegetal. Dentre estes nutrientes podemos citar a vitamina A, vitamina B₁₂, riboflavina, cálcio, ferro e zinco. A deficiência de ingestão destes nutrientes está associada à anemia, raquitismo e problemas neuromusculares (LEGARRETA, 2010).

A carne de aves, em especial, possui alto conteúdo proteico. Na tabela 1 é apresentada a composição aproximada, para 100 gramas de diversos tipos de carne de aves.

Tabela 1-Composição aproximada de diversos tipos de carnes de aves (g/100g).

Componente	Frango	Peru	Pato	Codorna
Água	75	73	71	74
Minerais	1	0,8	1	1
Proteína	12	14	13	13
Lipídios	11	12	14	11
Fibras	0	0	0	0
Carboidratos	1	1	1	1

Fonte: USDA (2006).

A água é o constituinte majoritário nas carnes em geral. Corresponde a cerca de 75% do conteúdo total na carne de frango. Além disso, esta alta quantidade de água implica em uma atividade da água próxima de 0,99. Este valor de atividade de água da carne de frango a torna altamente perecível e suscetível a reações químicas e bioquímicas de degradação (NOLLET, 2010).

Em segundo lugar, temos as proteínas como componente majoritário nas carnes. O valor nutricional das proteínas da carne está relacionado ao conteúdo de aminoácidos presentes, uma vez que o corpo humano necessita de certos aminoácidos ditos de essenciais como é o caso da metionina e lisina (EDMONSON & GRAHAM, 1975; JENKINS & MITCHELL, 1989). Na carne de frango, além da metionina e lisina, destacam-se também os aminoácidos leucina, isoleucina, valina e histidina. Além disso, o tipo e quantidade das proteínas presentes tem relação com a capacidade de retenção de água da carne e, consequentemente, com a textura e suculência da carne assada (ROÇA, 2012).

Em terceiro lugar, temos os lipídios que são fonte de energia para o metabolismo e também fonte de ácidos graxos essenciais (NOVELLO et al., 2008; BRANDÃO et al., 2005; SIRRI et al., 2003). Na carne de frango, existem ácidos graxos insaturados como é o caso do ácido oleico (C18:1 n-9) e linoleico (C18:2 n-6) e ácidos graxos saturados como o ácido palmítico (C16:0) (NOLLET, 2010). Em relação aos ácidos graxos, podem ser encontrados na

carne de frango compostos da família ômega 6 como o ácido linoleico (C18:2 n-6) e araquidônico (C20:4 n-6), além de ácidos graxos da família ômega 3 como o ácido linolênico (C18:3 n-3) (NOVELLO et al., 2008; MARANGONI et al., 2015). Na carne de frango também pode ser encontrado o ácido graxo poliinsaturado de cadeia longa ácido docosahexanóico (C22:6 n-3), que embora não seja considerado essencial tem importantes funções para saúde (POTENÇA et al., 2010). A quantidade destes ácidos graxos possui ainda correlação com a maciez e o sabor da carne (EINEN; SKREDE 1998; ROSSATO, 2007; POTENÇA et al., 2010; MARANGONI et al., 2015).

Como descrito anteriormente a carne de frango é uma importante fonte de vitaminas do complexo B, como a niacina, ácido pantotênico e vitamina B₆. Além das vitaminas, a carne de frango é também rica em selênio e ferro que são minerais com importantes funções no metabolismo. O ferro, por exemplo, é componente para a composição da hemoglobina e da mioglobina. Já o selênio é cofator importante para certas enzimas e faz parte da constituição de metaloproteínas (MADIGAN et al., 1994; NOLLET, 2010).

Quanto aos carboidratos, a carne é pobre nestes componentes, que representam em torno de 1% de seu conteúdo. Os carboidratos podem ser encontrados na forma de polissacarídeos como o glicogênio, e na forma de monossacarídeos como a glicose e a frutose. No entanto, os carboidratos são muito importantes no processo de cocção, pois participam de diversas etapas da Reação de Maillard como é caso da degradação de *Strecker*, na qual reagem com aminoácidos, formando pirazinas, compostos importantes para o aroma, e melanoidinas, polímeros que conferem cor característica para a carne assada (ROÇA et al, 2012).

1.4 *Humulus lupulus* (lúpulo)

O lúpulo é uma trepadeira perene, que pertence ao gênero *Humulus*, a família Cannabaceae e a ordem das rosales (KOETTER & BIENDL, 2010). A planta apresenta folhas de coloração verde-escura e com formato de coração (Figura 3). O lúpulo é uma planta dióica, isto é, apresenta indivíduos do sexo masculino e feminino. As flores das plantas fêmeas são utilizadas pela indústria devido a sua composição rica em resinas (que contém alfa-ácidos e beta-ácidos), compostos fenólicos e óleos essenciais (ENGELS & JUAN, 2006). A maior parte da produção de lúpulo (cerca de 95%) é destinada a produção de cerveja, enquanto que apenas 5% da produção mundial é empregada para fins medicinais como antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatório e calmante.

Figura 3-Fotografia de uma planta fêmea de lúpulo com flores.

Fonte: Cultivo de lúpulo - Soluções integradas para agricultura, 2017.

Segundo a Convenção Internacional dos Produtores de Lúpulo (2017), em 2016 foram produzidas 108 mil toneladas de flores de lúpulo. Dezenove países contribuíram para essa produção, sendo os maiores produtores em ordem crescente: Alemanha, EUA, República Tcheca, Polônia e Eslovênia. Ainda, segundo a Convenção Internacional dos Produtores de Lúpulo (2017), dentre esses países, a Alemanha contribuiu com 45% da produção mundial de lúpulo e os EUA com 39%. Na Figura 4 pode ser observada a produção mundial de lúpulo em 2016 segundo os maiores produtores.

Figura 4-Produção de lúpulo em 2016 em toneladas.

Fonte: Adaptado de INTERNATIONAL HOP GROWERS' CONVENTION ECONOMIC COMMISSION, 2016. Obs: Outros países incluem França, Ucrânia, Áustria, Bélgica, Eslováquia, Romênia, Rússia e Sérvia.

Uma das formas de controlar as reações de oxidação da carne de frango é pelo emprego de extratos naturais, como é o caso dos β -ácidos do lúpulo (Figura 5), que podem ser administrados na ração dos animais. Tal iniciativa parte do princípio de que o lúpulo é empregado nas cervejarias com a finalidade de controlar processos oxidativos e contaminações microbianas durante a produção de cerveja (GRUESO et al., 2013). Assim, acredita-se que a suplementação da dieta dos frangos com β -ácidos do lúpulo, em concentrações adequadas, pode substituir os promotores de crescimento, antimicrobianos e antioxidantes na ração dos animais, melhorando o desempenho de produção da carne e diminuindo processos oxidativos da mesma após o abate dos animais (BORTOLUZZI et al., 2015; CORNELISON, 2006). E, embora existam trabalhos na literatura muito promissores a este respeito, em nossa revisão bibliográfica, não foram encontrados relatos de investigações a respeito do impacto do uso de β -ácidos do lúpulo na dieta de frangos sobre a composição dos voláteis da carne assada destes animais. Em função disso, foi desenvolvida esta pesquisa cujo objetivo foi o de estudar o efeito da suplementação com diferentes concentrações de β -ácidos do lúpulo na dieta de frangos de corte sobre a composição da fração volátil da carne assada destes animais.

Figura 5- Estrutura química dos β -ácidos do lúpulo.

$R = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2 = \text{lupulona}$

$R = \text{CH}(\text{CH}_3)_2 = \text{colupulona}$

$R = \text{CHCH}_3\text{CH}_2\text{CH}_3 = \text{adlupulona}$

Fonte: Adaptado de KARABIN et al., 2016. Os nomes dos compostos acima segundo a nomenclatura da IUPAC seguem a seguir: colupulona: 3,5-dihidroxi-4,6,6-tris(3-metilbut-2-enil)-2-(2-metilpropanoil)ciclohexa-2,4-dien-1-ona; adlupulona: 3,5-dihidroxi-2-(2-metilbutanoil)-4,6,6-tris(3-metilbut-2-enil)ciclohexa-2,4-dien-1-one; lupulona: 3,5-dihidroxi-2-(3-metilbutanoil)-4,6,6-tris(3-metilbut-2-enil) ciclohexa-2,4-dien-1-ona.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. Objetivo geral

O objetivo geral desta pesquisa foi o de identificar os voláteis importantes para o aroma da carne assada de frango, de aves cuja dieta foi suplementada com diferentes concentrações de beta-ácidos do lúpulo.

2.2 Objetivos específicos

- a) Otimizar as condições de extração dos voláteis da carne assada de frango empregando micro extração em fase sólida de *headspace* (HS-SPME) utilizando ferramentas estatísticas multivariadas.
- b) Identificar os voláteis presentes na carne assada de frangos suplementados com diferentes concentrações de β -ácidos por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.
- c) Empregar ferramentas quimiométricas como a análise de componentes principais para verificar o efeito dos diferentes níveis e suplementação com beta-ácidos do lúpulo sobre a composição dos voláteis da carne assada de frango, indicando o melhor nível de suplementação capaz de fornecer voláteis com importância odorífera desejada em carne assada de frango.
- d) Identificar o teor de gordura e quantificar a concentração de ácido graxos presentes nas amostras de frangos suplementados com 0 (controle negativo), 30, 60 e 120 mg de β -ácidos do lúpulo por kg de ração.

2.3 Procedimento Experimental

2.3.1. Animais e dieta

Um delineamento experimental inteiramente randomizado foi realizado com 1440 pintinhos machos da linhagem Cobb 500, com $42,3 \pm 0,4$ g, com um dia de idade, do sexo masculino, distribuídos em cinco tratamentos com seis repetições por tratamento e 40 aves por unidade experimental. O confinamento dos animais foi realizado na Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz (ESALQ - USP, Piracicaba-SP, Brasil), sob supervisão do Prof. Dr. José Fernando Machado Menten.

As aves foram alimentadas *ad libitum* durante 42 dias com dietas basais suplementadas com 0 (controle negativo), 30, 60 e 120 mg de β -ácidos do lúpulo por kg de ração. Um programa de alimentação de quatro fases regular foi adotado: pré-inicial (1-7 dias),

inicial (7-21 dias), crescimento (21 a 35 dias) e de término (35 a 42 dias). As dietas basais foram formuladas à base de milho, farelo de soja, subprodutos avícolas para refeições e farelo de trigo, de acordo com as exigências nutricionais de frangos (ROSTAGNO et al., 2011) e continha respectivamente: 2950, 3000, 3100, e 3150 kcal kg⁻¹ de energia metabolizável; 23,3; 21,5; 20,0, e 19,0% de proteína bruta; e 1,3, 1,17, 1,08% de lisina digestível. A composição e conteúdo experimental das dietas pode ser observado na Tabela 2. A quantidade basal de 20 mg de acetato de α -tocoferol por kg de alimento foi fornecida pela pré-mistura de vitamina para atingir as necessidades fisiológicas de vitamina E dos frangos.

Tabela 2- Composição e conteúdos calculados de dietas experimentais (como base alimentar).

Item (% , salvo indicação contrária)	Pré- iniciador	Iniciador	Promotor de crescimento	Finalizador
Ingredientes				
Milho	50,90	56,50	60,00	62,95
Refeição de grãos de soja	32,87	28,00	24,12	21,42
Farelo de trigo	5,00	5,00	5,00	5,00
Farinha do subproduto de carne de frango	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	2,29	2,01	2,84	2,98
Fosfato dicálcio	1,61	1,23	1,00	0,78
Calcário	0,79	0,80	0,74	0,64
Sal	0,47	0,44	0,42	0,40
MHA	0,45	0,37	0,33	0,29
L-Lisina HCl	0,32	0,29	0,29	0,29
L-Thr	0,07	0,04	0,03	0,02
Pré-mistura de vitaminas	0,10	0,10	0,08	0,06
Pré-mistura de minerais	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloreto de colina (60%)	0,08	0,08	0,06	0,04
Caulim	0,08	0,08	0,08	0,08
Total (kg)	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição calculada				
ME(kcal/kg)	2,95	3,00	3,10	3,15
CP	23,30	21,50	20,00	19,00
Lisina digestível	1,31	1,17	1,08	1,01
Metionina+Cisteina digestível	0,94	0,85	0,79	0,74
Metionina digestível	0,62	0,54	0,50	0,46
Treonina digestível	0,85	0,76	0,70	0,66
Cálcio	0,92	0,82	0,73	0,64
Fósforo disponível	0,47	0,39	0,34	0,30
Sódio	0,22	0,21	0,20	0,20

1-Análogos de hidroximetionina. 2-Providenciado por quilograma por alimento: vitamina A, 9,000,000 IU; vitamina D3, 2,500,000 IU; Vitamina E, 20,000 IU; vitamina K3, 2500 mg; vitamina B1, 2,000 mg; vitamina B2, 6,000 mg; vitamina B6, 3,000 mg; vitamina B12, 15,000 µg; niacina, 35 g; pantotenato, 12 g; biotina, 100

m; ácido fólico, 1,500 mg; selênio, 250 mg.3-Providenciado por quilograma de alimento: Mn, 160,000 mg; Fe, 100,000 mg; Zn 100,000 mg; Cu, 20,000 mg; Co, 2,000 mg; I, 2,000 mg. Fonte: Bortoluzzi et al., 2014.

Em 42 dias do experimento, um frango de cada replicata do experimento foi abatido por deslocamento cervical. O músculo peitoral maior foi amostrado, separado de todo o tecido conjuntivo e gordura subcutânea, sendo armazenado a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises.

2.3.2 Procedimento para descongelamento das amostras de carne de frango

As amostras de carne de frango foram descongeladas conforme procedimento descrito por Madruga et al. (2009): as peças de carne de frango foram descongeladas a temperatura de refrigeração ($6\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 24 h. Após o descongelamento foi realizado toalete da carne com a retirada de resíduos e gorduras aparentes.

2.3.3 Determinação dos voláteis da carne assada de frango por SPME

2.3.4 Preparo das amostras e escolha da fibra de SPME

Após o descongelamento e retirada das gorduras aparentes a carne foi submetida ao processo de cozimento em um *grill* marca George Foreman® (George Foreman Grilling Machine, GR2060 W, 127 V, China). Durante o processo de cocção o filé de peito foi grelhado por 10 min de cada lado e o final do cozimento foi determinado quando a temperatura interna do filé atingisse 85 °C (BRUNTON; CRONIN; MONAHAN, 2002). Para controle da temperatura interna dos filés foi utilizado um termômetro tipo espeto próprio para alimentos (Dihao WT-1, Guangdong, China). Após a cocção, a carne de frango grelhada foi resfriada em gelo até atingir a temperatura de 0 °C, para interromper o processo de cozimento. Após, a carne foi triturada com o auxílio de um *blender* doméstico, marca Black & Decker, modelo SB40 (Black & Decker do Brasil Ltda, Uberaba, MG, Brasil). Alíquotas de 10 g de carne assada triturada foram pesadas em frascos de 60 mL com tampa de rosca e septo de PTFE silicone próprios para SPME (Supleco 27539, Bellefonte, USA).

Para a seleção do material de recobrimento das fibras de SPME foram testados cinco tipos de fibras: 75 µm CAR/PDMS (carboxen/polidimetilsiloxano), 65 µm PDMS/DVB (polidimetilsiloxano/divinilbenzeno), 50/30 µm DVB/CAR/PDMS (divinilbenzeno/polidimetilsiloxano), 100 µm PDMS (polidimetilsiloxano) e 85 µm PA (poliacrilato). Todas as fibras foram adquiridas da Supelco, (Bellefonte, PA, USA). Antes do uso as fibras foram devidamente condicionadas seguindo as recomendações do fabricante. Para verificar qual fibra possuía melhor capacidade de extração dos voláteis da carne assada todas elas foram expostas ao *headspace* das amostras nas seguintes condições de extração arbitrariamente estabelecidas: temperatura de extração 70 °C; tempo de equilíbrio 10 min e o tempo de extração de 30 min (BRUNTON; CRONIN; MONAHAN, 2002). As amostras foram submetidas à extração por SPME em banho termostático utilizando béquer encamisado para um melhor controle da temperatura durante a extração (Figura 6). Após a extração, as fibras foram imediatamente introduzidas no injetor do cromatógrafo a gás para dessorção dos analitos a uma temperatura de 250 °C, em modo *splitless*, por 10 min. Após o procedimento de dessorção, as fibras foram recondicionadas a 250 °C durante 15 min, de acordo com as recomendações do fabricante. Esse procedimento foi realizado para garantir a correta limpeza da fibra de SPME. Todas as cinco fibras foram testadas em triplicata, e a fibra que forneceu a

maior área total do cromatograma, foi escolhida para as etapas posteriores de otimização das condições de extração. Todas as análises posteriores foram realizadas em triplicata.

Figura 6 - Fotografia do sistema para extração de voláteis da carne de frango por SPME utilizando béquer encamisado com circulação de água.

Fonte: Autoria própria.

2.3.5 Otimização da extração dos voláteis da carne assada de frango por SPME

Uma vez escolhida a fibra com a maior capacidade de extração dos voláteis da carne assada de frango, foi realizada a otimização das condições de extração por meio de um delineamento composto central rotacional (DCCR), baseado num planejamento fatorial 2^2 , com quatro pontos axiais ($\alpha = 1,41$) e três repetições no ponto central (FERREIRA et al., 2007; BOGUSZ et al., 2011). As variáveis otimizadas foram tempo de extração (t , min.) e temperatura de extração (T , °C), os níveis de cada variável investigada podem ser observados na Tabela 3.

Foram escolhidas estas variáveis para otimização, pois são as variáveis descritas na literatura como as que mais afetam o processo de extração de voláteis em carne assada

(MACHIELS & ISTASSE, 2003; MA et al., 2013). No total, doze experimentos foram realizados de forma aleatória (Tabela 4).

Tabela 3-Fatores e níveis utilizados para otimização das condições de extração dos voláteis em carne assada de frango por HS-SPME.

Variáveis	Variáveis codificadas				
	$-\alpha$	-1	0	1	α
Tempo (t, min)	24	30	45	60	66
Temperatura (T, °C)	45	50	63	75	80

$\alpha = 1,41$

Fonte: Autoria própria.

Tabela 4-Experimentos realizados no delineamento composto central rotacional na etapa de otimização das condições de extração dos compostos voláteis em carne de frango por HS-SPME.

Ensaio	X1 (min)	Tempo (min)	X2 (°C)	Temperatura (°C)
1	-1	30	-1	50
2	1	60	-1	50
3	-1	30	1	75
4	1	60	1	75
5	0	45	0	63
6	0	45	0	63
7	0	45	0	63
8	0	45	0	63
9	-1,41	24	0	63
10	1,41	66	0	63
11	0	45	-1,41	45
12	0	45	1,41	80

Fonte: Autoria própria.

2.3.6 Análise dos voláteis de carne assada por GC-MS

Todas as análises dos voláteis da carne assada de frango foram realizadas em um GC-MS Shimadzu modelo GC-2010 (Shimadzu, Kyoto, Japão) acoplado a um detector espectrométrico de massas quadrupolar. A separação dos analitos, tanto na etapa de escolha de fibra quanto na otimização e nos experimentos posteriores, ocorreu em uma coluna capilar de sílica fundida VF-5MS (30 m $\times$ 0,25 mm d.i. $\times$ 0,25 μ m). As condições cromatográficas utilizadas foram: injetor a 250 °C, modo splitless; gás de arraste hélio a 1,0 mL min⁻¹; rampa de temperatura: 40 °C, com incremento de 3 °C min⁻¹ até 240 °C, interface a 200 °C; fonte de ionização por elétrons a +70 eV (35-350 m/z).

Após a otimização das condições de extração, para confirmar que a fibra selecionada na etapa de escolha de fibra possui a maior capacidade de extração dos voláteis da carne assada de frango, foram realizadas extrações em triplicatas com cada uma das cinco fibras testadas utilizando para isso uma amostra de carne de frango comercial. Por outro lado, para as amostras de carne de frango dos animais que foram suplementados com β -ácidos de lúpulo foram realizadas extrações dos voláteis, em triplicata, nas condições ótimas de extração, utilizando apenas a fibra que apresentou melhor capacidade de extração. A identificação tentativa dos voláteis tanto da carne de frango comercial assada quanto das carnes de frango com suplementação 0, 30, 60 e 120 mg de β -ácidos de lúpulo kg^{-1} de ração, foi realizada com base nas comparações dos espectros de massa obtidos com as amostras e os espectros de massa da NIST 2008, com similaridade mínima de 80%. Uma solução de n-alcenos ($\text{C}_7\text{-C}_{18}$) (Alltech, PA, USA) foi injetada no GC-MS sob as mesmas condições da amostra, com a finalidade de obter os cálculos dos índices de retenção de temperatura programada Van den Dool e Kratz (LTPRI – *linear temperature programmed retention index*). Foi considerada a variação máxima dos LTPRI de ± 10 .

2.3.7 Perfil de ácidos graxos da carne de frango

Para conhecer o efeito dos diferentes níveis de suplementação com beta-ácidos sobre a composição lipídica da carne de frango, foram realizados os procedimentos experimentais descritos a seguir.

2.3.8 Extração da gordura da carne de frango

As amostras, uma vez descongeladas, foram submetidas a procedimento de extração da gordura pelo método de Folch (1957) com pequenas modificações, como segue: amostras de $5,0 \pm 0,5$ g foram pesadas e homogeneizadas em *blender* doméstico, marca Black & Decker, modelo SB40 (Black & Decker do Brasil Ltda, Uberaba, MG, Brasil). As amostras trituras foram transferidas para tubos Falcon de 50 mL. Nestes tubos adicionou-se 20 mL de uma solução clorofórmio-metanol (2:1) contendo 0,01 % (m/v) do antioxidante di-terc-butil metil fenol (BHT) e, em seguida, o tubo foi agitado em vórtex (IKA, Lab Dancer, Brasil, Goiânia) durante 5 minutos. A mistura foi então filtrada e transferida para um funil de separação, com auxílio de papel filtro. O resíduo foi re-extraído com mais 20 mL da mistura de solventes clorofórmio-metanol (2:1) contendo 0,01 % (m/v) de BHT. A mistura foi filtrada novamente, de modo que foram obtidos 40 mL da solução clorofórmio-metanol (2:1) no funil de separação. Em seguida, adicionou-se 7 mL de KCl 0,74% no funil e agitou-se para separar

as fases. A fase inferior (fase orgânica clorada) foi recolhida para um balão previamente tarado e rotaevaporou-se os solventes do balão, de modo a obter a gordura extraída. O balão foi pesado para quantificar o teor de gordura.

2.3.9 Derivatização da gordura a ésteres metílicos de ácidos graxos

Para a derivatização dos ácidos graxos da gordura da carne de frango em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) seguiu-se a metodologia proposta por Joseph & Ackman (1992) como segue: em um tubo de ensaio com tampa rosqueável foi adicionado 1,0 mL da solução 1 mg mL^{-1} do padrão interno tricosanoato de metila (23:0Me) em iso-octano. Após a remoção completa do iso-octano em fluxo suave de N_2 , foram pesados 25 mg da gordura de frango no tubo contendo o padrão interno e, em seguida, foram adicionados 1,5 mL de uma solução metanólica de $\text{NaOH } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Esta solução foi então aquecida em banho-maria a 100°C por 5 min com a finalidade de saponificar os ácidos graxos livres (Figura 7). Após a reação de saponificação a amostra foi resfriada à temperatura ambiente e então foram adicionados 2 mL de uma solução de BF_3 (trifluoreto de boro) em 10% em metanol. Para o processo de metilação a mistura foi aquecida em banho-maria a 100°C por 30 min, após este período a amostra foi resfriada a temperatura ambiente. Para a extração dos FAME foram adicionados 0,5 mL de iso-octano ao tubo com a finalidade de extrair para a fase orgânica os ésteres metílicos de ácidos graxos. Para facilitar a separação de fases foi adicionado 1,0 mL de solução aquosa saturada de NaCl e a amostra foi agitada em vórtex por 30 s. A fase orgânica superior foi coletada e transferida para um *vial* âmbar de 2 mL. Este procedimento foi repetido para garantir uma extração exaustiva dos FAME.

Figura 7 - Aquecimento em banho-maria dos tubos de ensaios contendo gordura extraída das carnes de frango e o derivatizante BF_3 para obtenção dos ésteres metílicos de ácidos graxos.

Fonte: Autoria própria.

2.3.10 Análise dos FAME por GC-FID

Os FAME foram identificados e quantificados em um cromatógrafo a gás, marca Shimadzu modelo GC-2014 (Shimadzu, Kyoto, Japão) acoplado a um detector de ionização em chama (FID). A separação ocorreu em uma coluna capilar de sílica fundida VF-5MS (30 m $\times$ 0,25 mm d.i. $\times$ 0,25 μ m). As condições cromatográficas utilizadas foram: injetor a 260 °C, modo splitless; gás de arraste nitrogênio a 0,6 mL min⁻¹; rampa de temperatura: 100 °C por 0,5 min, com incremento de 3 °C min⁻¹ até 260 °C (permanecendo nesta temperatura por 10, 67 min); detector à 280 °C. Os FAME foram identificados pela co-injeção do padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos GLC-85 (Nuchek, Elysian, USA). A quantificação foi realizada pelo método do padrão interno utilizando o FAME C23:0 (tricosanoato de metila) (Nuchek, Elysian, USA). As análises foram realizadas em duplicata.

2.3.11 Análise estatística

Os resultados referentes aos dados de área para a escolha de fibra das cinco fibras avaliadas foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de significância. As análises estatísticas para o delineamento composto central rotacional (DCCR) foram realizadas empregando o software Statistica v.13 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Foi realizada a análise de componentes principais (PCA) com a área total de cada composto, afim de visualizar os agrupamentos das amostras de carne de frango assada em função da suplementação com beta-ácidos.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Escolha do material de revestimento da fibra de SPME

Na Figura 8, são apresentados os resultados de área total obtidos para cada uma das cinco fibras de SPME testadas. A seleção do revestimento das fibras de SPME é baseada no princípio “semelhante dissolve semelhante”. Isto é, compostos apolares apresentam alta afinidade pela fase apolar de PDMS (polidimetilsiloxano) (THEODORIDIS et al., 2000), compostos polares apresentam maior afinidade por fases polares como poliacrilato e carboxen (VALENTE & AUGUSTO, 2000). Por outro lado, fibras mistas como a CAR/PDMS e DVB/CAR/PDMS são indicadas principalmente para misturas de voláteis contendo compostos polares e apolares (PARREIRA & CARDEAL, 2005).

Em nosso experimento observou-se que a fibra que apresentou maior área total no cromatograma foi a CAR/PDMS, seguida da DVB/PDMS. Assim, a fibra de CAR/PDMS foi escolhida para as etapas seguintes do experimento. A fibra CAR/PDMS é descrita na literatura como a escolhida para análise de voláteis em carne assada, por exemplo, Machiels e Istasse, (2003) que estudaram o uso de fibras mistas CAR/PDMS e DVB/CAR/PDMS na identificação de compostos voláteis importantes para o aroma da carne bovina assada e Brunton et al. (2002), que utilizou a fibra CAR/PDMS para realizar análise qualitativa dos voláteis da carne assada de peru.

Figura 8 - Eficiência de extração das fibras de SPME testadas. O resultado é expresso como média das triplicatas para área total das fibras obtidas no GC-MS. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey a 95% de confiança.

Fonte: Autoria própria.

2.4.2 Estratégia de otimização para extração dos voláteis por SPME

Na Tabela 5 são apresentados os resultados do planejamento fatorial utilizado para encontrar as melhores condições de extração dos voláteis da carne assada de frango. Podem ser observados que os maiores valores de área total foram obtidos com as condições de 45 minutos de extração a 80 °C, correspondentes ao ensaio 12. A segunda melhor condição foi a do ensaio 4, ou seja, extração por 60 min em temperatura de 75 °C.

Tabela 5-Condições experimentais e valores de área total dos cromatogramas obtidos na etapa de otimização das condições de extração por SPME dos voláteis em carne assada de frango.

Ensaio	X1 (min)	Tempo (min)	X2 (°C)	Temperatura (°C)	Área total ^a
1	-1	30	-1	50	2,36E+08
2	1	60	-1	50	1,66E+08
3	-1	30	1	75	2,94E+08
4	1	60	1	75	4,15E+08
5	0	45	0	63	3,81E+08
6	0	45	0	63	3,58E+08
7	0	45	0	63	3,88E+08
8	0	45	0	63	3,82E+08
9	-1,41	24	0	63	1,02E+08
10	1,41	66	0	63	2,19E+08
11	0	45	-1,41	45	7,88E+07
12	0	45	1,41	80	6,13E+08

Fonte: Autoria própria. a = área total expressa em unidades arbitrárias

A tabela acima mostra um aumento na área total dos cromatogramas sob as condições de mais alta temperatura, isto é, 80 °C e com extração por 45 min. O emprego de altas temperaturas na extração de voláteis em carne é prática comum, e na literatura podemos encontrar publicações que relatam o uso de altas temperaturas para extração dos voláteis de carne assada, como é o caso dos trabalhos de Pino et al. (2013); Brunton; Cronin e Monahan, (2002) e Brunton et al. (2000), que empregaram temperaturas maiores que 60 °C para extração de voláteis em carne. A explicação para este fato reside na capacidade de ligação e retenção que as proteínas da carne possuem sobre os voláteis formados durante o processo de cocção. Esta retenção se dá através de ligações de hidrogênio, interações dipolo-dipolo, e dipolo-dipolo induzido, que aprisionam os voláteis na amostra, liberando-os apenas sob alta temperatura, que expõe grupos polares do interior da cadeia proteica liberando os voláteis.

Então, apenas sob temperaturas acima de 60 °C, estes voláteis se desprendem da carne podendo ser extraídos no *headspace*.

A Figura 9 mostra o diagrama de Pareto, que resume os resultados experimentais obtidos utilizando o delineamento composto central rotacional (DCCR) com a fibra CAR/PDMS. Pode-se observar que os parâmetros temperatura linear (L) e tempo quadrático (Q) foram significativos em um intervalo de confiança de 95%. Todos os parâmetros investigados foram utilizados no delineamento experimental, de modo a obter as melhores condições para a temperatura e tempo de extração. Os experimentos foram também realizados no ponto central ($n = 3$) com o objetivo de estimar o erro puro ($3,45E+15$) e detectar qualquer eventual falta de ajuste da modelo.

Figura 9 - Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveis estudadas. Resposta: área total, 2 fatores, 1 bloco, 11 experimentos, erro puro $3,45E+15$.

Fonte: Autoria própria

Na Tabela 6, encontram-se os resultados de ANOVA para o DCCR considerando a área total de picos. É possível verificar que a significância estatística da regressão dada pela razão entre a média dos quadrados da regressão pela média quadrática dos resíduos (MQR/MQr) é de 6,48, correspondente ao valor de F calculado. Quando comparado ao nível de significância de 95% com o valor de F_1 tabelado (5, 6, 95%) que é de 4,38, verifica-se que $F_{1\text{ calculado}} > F_{1\text{ tabelado}}$

cerca de 1,48 vezes, o que indica a existência de uma adequada correlação entre as variáveis estudadas e uma boa qualidade do modelo gerado (PEREIRA FILHO, 2015). Ao analisar a significância estatística da falta de ajuste do modelo, dada pela razão entre a média quadrática da falta de ajuste pela média quadrática do erro puro (MQfaj/MQep), verifica-se que o valor tabelado do teste F_2 (5, 6, 95%) é igual a 9,28, que é menor do que o valor do teste F_2 calculado, 2,73. Lembrando que um bom ajuste do modelo deve apresentar $F_{2\text{calculado}} < F_{2\text{tabelado}}$. Portanto, o modelo obtido não apresenta falta de ajuste aos resultados experimentais, permitindo fazer previsões sobre a resposta área total para outras temperaturas e outros tempos de extração dentro dos níveis estudados, com base no modelo obtido.

Destaca-se que o desvio padrão relativo (CV%) para os valores de área total obtidos no ponto central do DCCR foi menor que 4% indicando boa repetibilidade do método desenvolvido nesta condição. As réplicas no ponto central informam a magnitude do erro puro (SQep), e fornecem uma ideia do erro intrínseco aos experimentos realizados. O valor do coeficiente de determinação (R^2) indica que o modelo explica 84% da variabilidade para resposta da área total do cromatograma, o valor de R^2 máximo explica 96% dessa variabilidade.

Tabela 6-ANOVA pelo método dos mínimos quadrados, para os parâmetros temperatura e tempo de extração dos compostos voláteis de carne assada de frango por HS-SPME para resposta de área total do cromatograma.

Fontes de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	F_{cal}	F_{tab} (95%)	$F_{\text{cal}} / F_{\text{tab}}$
Regressão	2,08E+017	5	4,16E+016	6,48	4,39	1,45
Resíduos	3,86E+016	6	6,43E+015			
Total	2,47E+017	11	2,24E+016			
Erro puro	1,03E+016	3	3,45E+015	2,73	9,28	1,50
Falta de ajuste	2,82E+016	1	9,41E+015			
R^2	0,84					
R^2 máximo	0,96					

Fonte: Autoria própria.

A superfície de resposta obtida no DCCR e o gráfico de contorno para resposta de área total do cromatograma podem ser observados na Figura 10.

Figura 10 - Superfície de resposta obtida pelo modelo quadrático para resposta de área total do cromatograma = $3,47E+008 + 2,70E+07 * t - 8,76E+07 * t^2 + 1,33E+08 * T + 5,91E+06 * T^2 + 4,77E+07 * t * T$, e gráfico de contorno da otimização das condições de temperatura de extração (T, °C) e tempo de extração (t, min) dos voláteis de carne assada de frango por HS-SPME.

A superfície de resposta e o gráfico de contorno obtidos no DCCR apresentaram região de máximo sinal analítico correspondente aos valores de 80 °C e 45 min para temperatura e tempo de extração.

2.4.3 Análise dos voláteis por SPME nas condições de extração otimizadas

Após encontrar os valores ótimos de temperatura e tempo de extração foram realizadas extrações em triplicata nas condições ótimas dos voláteis presentes na carne assada de frango para uma amostra de carne de frango comercial cujos animais não receberam beta-ácidos do lúpulo, com a finalidade de apenas validar os valores ótimos encontrados no DCCR. Na Figura 12 é apresentado um cromatograma típico dos voláteis presentes nesta carne assada de frango. Neste cromatograma foram identificados 68 compostos voláteis. Os voláteis identificados com seus respectivos descritores de odor e índices de retenção (LTPRI) encontram-se na Tabela 7.

Figura 11 - Cromatograma dos voláteis em carne assada de frango por GC-MS empregando as condições ótimas de extração dos voláteis por SPME. a= cromatograma total e b=ampliação da região em destaque.

Fonte: Autoria própria

Diversas classes químicas foram encontradas na fração volátil da carne assada de frango, de modo que o perfil de voláteis era constituído pelas seguintes classes químicas: aldeídos (20%), alcanos (16%), álcoois (15%), ésteres (11%), pirazinas (8%), cetonas (7%), ácidos carboxílicos (6%), alcenos, (5,8%), compostos sulfurosos (3%), lactonas e acetais (2%).

Tabela 7-Compostos voláteis identificados por HS-SPME e GC-MS em amostra de carne de frango nas condições ótimas de extração para os cinco tipos de fibras testados.

Nome	m/z	LTPRI _{cal.}	LTPRI _{lit.}	Δ	Fibras de SPME					Descritor de odor
					DVB/CAR/PDM S	CAR/PDM S	DVB/PDM S	PDM S	PA	
Aldeídos										
(Z)-9-octadecenal ^c	41,55,69,83,248	2008	2007	-1		x	x	x	x	gordura
Benzaldeído ^a	39,51,77,105,106	972	971	-1	x	x	x			doce, floral e noz
Pentanal, 2-metil- ^a	39,41,43,58,71,100	746	745,8	0		x				éter, frutado
(Z)-13-octadecenal ^a	41,55,41,69	2006	2007	1			x	x	x	cera
2-fenil-2-butenal ^a	115,117,146,	1281	1281	0	x	x	x			carne assada,verde, floral
2-(E)-octenal, 2-butil ^c	41,55,111,139,182	1376	1378	2		x				-
2-(Z)-octenal, 2-butil ^c	41,55,111,139,182	1375	1372,2	-3	x		x			-
2-Undecenal ^a	41,57,70,83,150	1372	1370	-2	x					fresco, frutado, cítrico
7-(Z)-hexadecenal ^c	55,67,98,121,220	1800	1798	-2					x	
9,17-(Z)-octadecadienal ^c	41,67,81	1994	1997	3			x	x	x	
Decanal ^{d,e}	41,43,57,70,82,112	1216	1214	-2	x	x	x	x	x	doce, cera,cítrico
Dodecanal ^c	41,57,82,96,140	1415	1415	0	x	x	x	x	x	
Fenilacetaldeído ^c	65,91,92,120	1053	1051	-2	x	x	x			
Heptadecanal ^c	43,57,82	1924	1920	-4				x		
Heptanal ^c	41,43,44,55,70,81	908	910	2	x	x	x			
Hexadecanal ^c	43,57,82,96,194	1824	1825	1	x	x	x	x	x	doce, sebo
Hexanal ^{d,e}	41,43,44,56,72,82	807	806	-1	x	x		x		oleoso, herbal
Nonanal ^c	41,43,44,56,57,98	1110	1108	-2	x	x	x	x	x	cera, cítrico
Octadecanal ^c	43,55,57,69,82,96	2026	2024	-2			x	x	x	cera, floral
Octanal ^c	43,56,69,84,110	1007	1007	0	x			x		fresco, cera
Pentadecanal ^c	43,57,82,96,109	1721	1721	0	x	x		x	x	papelão
Tetradecanal ^c	43,57,82,96,168	1618	1617	-1		x	x	x	x	óleo
Tridecanal ^c	43,57,82,96,154	1516	1513	-3	x	x	x	x		doce, mofo
Undecanal ^c	41,57,82,96,126	1313	1310	-3	x	x	x			doce, fragrante

Continuação da Tabela 7

Ácidos carboxílicos										
Ácido dodecanóico ^d	43,60,73,85,129,200	1580	1571	-9					x	gorduroso, cera, queijo, oleoso
Ácido octadecanóico ^d	43,73,129,241,284	2175	2172	3				x		gorduroso, moderado
Ácido pentadecanóico ^d	43,60,73,129,242	1873	1867,1	6		x		x	x	cera
Ácido 9-hexadecenóico ^d	41,55,69,83,97,236	1950	1942	-8		x	x	x	x	Cheiro de livros
Ácido linoleico ^d	41,55,67,81,95,280	2146	2145,8	0			x	x	x	gordura
Ácido oleico ^d	41,55,69,83,264	2149	2146,1	3			x	x	x	gordura
Ácido tetradecanóico ^d	43,60,73,129,185	1580	1571	-9					x	gorduroso, cera, queijo, oleoso
Acetais										
4-metil-2-pentil-1,3-dioxolano ^e	-	1096	1097	1	x	x	x	x	x	frutado
2-heptil-4-metil-1,3-dioxolano ^e	-	1288	1296	8	x	x	x	x		verde, amadeirado
Alcóois										
1-Pentadecanol ^e	43,55,69,83,97,111	1793	1788,9	-4	x		x	x		
2-etil-1-dodecanol ^e	42,43,57	1589	1591	2			x			
2-Etilciclobutanol ^e	41,43,57,70,83,98	832	828	-4		x				
Isoheptadecanol ^e	43,57,69,83,97,210	1895	1890	-5				x	x	
1-(2-metóxi-propoxi)-propan-2-ol ^e	-	1019			x	x	x			
11-metil dodecan-1-ol ^e	43,55,70,97,153	1843						x		
1-Hexadecanol ^e	41,55,69,83,97,111	1889	1882	-7	x		x	x	x	floral, cera, herbal, frutado
2-Hexil-1-decanol ^e	43,57,69,83,97,111	1471					x	x	x	
2-metil-1-dodecanol ^e	-	1372			x					
2-Nonen-1-ol ^e	41,43,57,82,95,124	1175	1171	-4			x			
7-(E)-tetradecenol ^e	55,69,97	1670	1664	-4	x					
1-octen-3-ol ^a	43,57,72,85,99	985	985,6	1	x	x	x			cogumelo
2-etil-1-hexanol ^e	41,43,57,70,83,112	1799	1800	1	x	x		x	x	cítrico, floral
(Z)-2-Dodecenol ^e	49,55,69,83,97,111	1466	1465	-1		x				
1-octanol ^e	41,56,70,84,97,112	1081	1080	-1	x	x	x			fresco, cera, verde, cítrico, frutado
1-nonanol ^a	43,56,70,83,98,126	1176	1171	-5	x		x			floral, laranja, oleoso

Continuação da Tabela 7

Octadecanol ^e	43,57,69,83,97,252	2096	2089,1	-7				x		moderado, oleoso
Tetradecanol ^e	43,55,69,83,97,196	1677	1671	-6	x		x			côco, frutado, cera, lírio
Alcanos										
4-Fenilundecano ^e	-	1634	1634	0	x					-
Decano ^e	43,57,71,85,142	1200	1200	0	x	x		x		Alcano
Docosano ^e	43,57,71,85,310	2199	2200	1		x	x	x		alcano, cera
Dodecano ^e	43,57,71,85,170	1200	1200	0		x	x	x		alcano
Dodecano, 2,6,10- trimetil ^e	-	1376	1376	0						parafina
Eicosano ^e	43,57,71,85,282	2000	2000	0	x	x				alcano
Heneicosano ^e	43,57,71,85,99,296	2100	2100	0	x	x	x			cera
Heptadecano ^e	43,57,71,85,240	1700	1700	0	x	x	x	x	x	alcano
Hexadecano ^e	43,57,71,85,226	1600	1600	0	x	x	x			cera
Nonadecano ^e	43,57,71,85,268	1900	1900	0	x	x				moderado
Nonano ^e	43,57,71,85,128	900	900	0			x			alcano, gasolina
Octadecane, 5-metil ^e	43,57,71,85,211	1850	1854	4		x				-
Octadecano ^e	43,57,71,85,254	1800	1800	0	x	x		x		Alcano338
Octano ^e	43,57,71,85,114	802	800	-2	x	x	x			alcano
Pentadecano ^e	43,57,71,85,212	1500	1500	0	x	x	x	x		alcano, gasolina
Tetracosano ^e	43,57,71,85,338	2400	2400	0	x		x			-
Tetradecano ^e	43,57,71,85,198	1400	1400	0	x	x	x	x		alcano, moderado, cera
Tricosano ^e	43,57,71,85,324	2299	2300	1	x		x			alcano, cera
Tridecano ^e	43,57,71,85,184	1300	1300	0	x	x	x	x		alcano
Undecano ^e	43,57,71,85,156	1100	1100	0		x	x	x		alcano
Alcenos										
1-Dodeceno ^e	41,55,70,83,168	1192	1191,3	-1	x	x	x			
9-Eicoseno, (E)- ^e	-	2012	2017	5	x		x	x		
1-Heptadeceno ^e	41,55,69,83,97,238	1694	1696	2	x	x	x			alcano

Continuação da Tabela 7

1-Hexadeceno ^c	43,55,69,83,97,224	1593	1591,9	-1	x	x	x	x	
1-Pentadeceno, 2-metil- ^d	43,56,69,83,97,224	1587	1587	0	x				
1-Tetradeceno ^c	43,57,83,97,196	1394	1389	-5				x	
Pentadeceno ^c	41,55,69,83,97,210	1493	1492,4	-1	x	x	x	x	
Cetonas									
2-Decanona ^d	43,58,71,85,156	1197	1191	-6	x	x	x		floral,gorduroso,cítrico
2-Dodecanona ^d	43,58,71,85,184	1362	1356	-6	x				frutado, cítrico, floral
2-Heptanona ^d	43,58,71,99,114	896	900	4		x			frutado, pimenta, queijo
2-Metil-5-decanona ^d	-	1275			x				
2-Nonanona, 3-metileno ^d	-	1311				x	x		
2-Pentadecanona ^d	43,58,71,85,226	1703	1699	-4	x			x	floral, fresco
2-Undecanona ^d	43,58,71,112,170	1297	1290	-7	x	x	x		frutado, gorduroso
3-Metil 2-pentanona ^d	43,57,72,85,100	732	732	0		x			
Benzofenona	51,77,105,182	1643	1644	1				x	balsâmico, floral, metálico
Ésteres									
10,13- metil octadecadienoato ^d	55,67,81	2163					x		
Etil linoleato ^b	41,67,81	2164	2162,9	-1	x				gorduroso, frutado
Etil oleato ^b	43,55,82,96,250	2170	2171	1	x				gorduroso
2-metil decenoato ^d	43,74,87,143,186	1287	1290	3		x			cogumelo
Etil hexadecanoato ^d	55,70,88,101,284	1997	1994	-3	x	x	x		cera, frutado, baunilha
Metil hexadecanoato ^d	43,55,74,87,270	1924	1924	0		x	x	x	x
Diocil hexanedionato ^d	74,87,271	2394					x		
Etil tetradecanoato ^d	43,74,87,143,242	1797	1793	-4	x				cera, sabão
Butil hexadecanoato ^d	56,73,116,129,257	2190	2188	-2		x			
Dodecil formato ^d	41,55,69,83,168	1393			x	x	x		
Metil 2-(3-oxo-2-pentilciclopentil)acetato ^d	-	1659	1650	-9			x	x	floral,doce, cítrico
Octil benzoato ^d	41,55,77,105,123	2210						x	frutado,balsâmico
Octil formato ^d	41,56,70,84,112	1134	1128	-6		x			frutado,floral,cera e pepino

Continuação da Tabela 7

Lactona									
2-pentil-tiofeno ^e	41,53,84,97,154	998	993	-5	x	x	x	x	frutado,verde, metálico
2-pentil furano ^e	41,53,81,138	1164	1169	5		x			frutado, gorduroso
Sulfurosos		1483			x		x		sulfuroso, carne, cozido
1-Dodecanetiol ^e	41,55,69,168,202	2096						x	
1-Tetradecanetiol ^e	-	1972	1972	0		x			
2-Etil hexil sulfeto ^e	-	1224	1223	-1		x			alho,carne, sulfuroso
Dimetil tetrasulfeto ^e	45,79,126,160	1483			x		x		
Pirazinas									
2,3,5,6-tetrametil, pirazinas ^e	27,39,42,54,136	1091	1087	-4	x		x		mofo,noz, cacau
2,3,5-trimetil pirazinas ^e	42,54,81,122,123	1010	1005	-5	x	x			noz,mofo, batata
2,3-Dietil-5-metilpirazina ^e	56,121,135,150	1156	1148	-8	x				mofado, torrado, terroso
2,6-Dimetil, pirazinas ^e	40,42,67,81,108	927	925	-2	x	x			assado, chocolate, carne
2,6-Dimetil-3-isopentilpirazina ^e	39,42,122	1343					x		frutado
2-Etil-3,5-Dimetil, pirazina ^e	42,135,136	1091	1081	-10		x			noz,queimado, assado
2-etil-3,5-dimetilpirazina ^b	42,135,136	1082	1079	-3	x				doce,noz, caracará, cacau
3,5-Dietil-2-metil-pirazina ^b	39,54,122,149,150	1160	1150	-10		x	x		noz,carne, vegetal
3,5-Dimetil-2-Isobutil, pirazina ^b	122,149,164	1203	1209	6		x	x		noz,batata, côco, cacau,café
3-etil-2,5-dimetil, pirazina ^b	42,56,121,135,136	1082	1078	-4		x	x		
Número total de compostos identificados					64	68	70	49	26

*Letras sobrescritas sobre os compostos identificados indicam voláteis reportados na literatura pra carne assada. a= JAYASENA, et al., 2013; b=FARMER, 1999; c= Flavornet, 2016; d=The Good Scents, 2016; e= BURDOCK, 2010. LTPRI_{Calc.} = Índice de retenção obtido usando coluna capilar 5%difenil 95% dimetil- polisiloxano. LTPRI_{Lit.} = Índice de retenção obtido usando coluna capilar 5% difenil 95% dimetil- polisiloxano. Δ= diferença entre LTPRI calculado e LTPRI encontrados na literatura.

Sabe-se que a carne de frango crua apresenta um odor pobre e, portanto, quando a carne passa por um processo de cocção diversas reações químicas contribuem para formação de compostos voláteis que conferem o aroma agradável da carne. Desse modo, a identificação dos precursores deste aroma permite o estudo das principais rotas de formação dos mesmos, o que está diretamente relacionado aos precursores existentes na carne crua, incluindo açúcares redutores, aminoácidos ou peptídeos, compostos sulfurosos, lipídios e ácidos graxos poli-insaturados (FARMER, 1999).

Pode-se discutir as rotas de formação de alguns compostos identificados a partir da sua classe química. A maioria dos álcoois, alcanos, alcenos, aldeídos, ésteres e alguns furanos tem origem via reação de oxidação lipídica de ácidos graxos. Enquanto que a principal rota de formação da maioria das pirazinas encontradas envolve a Reação de Maillard e a degradação de *Strecker*.

Em resumo as reações de oxidação de ácidos graxos envolvem uma sequência complexa de alterações químicas resultantes das interações dos ácidos graxos e podem ser divididas em três etapas, iniciação, propagação e terminação (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). A primeira etapa se estabelece com a abstração de um átomo de hidrogênio ligado a um carbono adjacente à uma ligação dupla de uma molécula de ácido graxo, por ação de radicais livres do meio, como o radical hidroxila, $\text{OH}^\cdot$. Na etapa de propagação formam-se então radicais de ácidos graxos conhecidos como radicais alquila ($\text{L}^\cdot$) que ao interagir com o oxigênio tripleto do meio (ou com qualquer outro sítio de abstração de hidrogênio) dão origem aos hidroperóxidos de ácidos graxos. O elétron desemparelhado deslocaliza pela cadeia hidrocarbônica produzindo isômeros na configuração *trans* e *cis* modificando as propriedades físico-químicas dos ácidos graxos. Por fim, na etapa de terminação outros radicais do meio reagem com os hidroperóxidos e formam-se compostos voláteis como aldeídos, alcanos, ésteres, dentre outros (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; SHAHIDI, 1994; FRANKEL, 1983).

Os aldeídos advêm, em sua maioria, dos produtos de degradação térmica e oxidativa dos ácidos graxos. Compostos como o octanal, 2-undecenal e nonanal são produtos de oxidação lipídica do ácido oleico. Já aldeídos como pentanal e hexanal advêm da oxidação lipídica do ácido linoleico, sendo que o aldeído mais abundante identificado no aroma de carne assada de frango é o hexanal (SHAHIDI, 1994) cujo valor de limite de percepção de odor (*threshold*) compreende a faixa de 4 - 23 ppb (BURDOCK, 2010). Outros aldeídos também exibem

valores muito baixos de *threshold* como decanal (0,1 - 6 ppb) e dodecanal (0,5 - 1,5 ppb) (BURDOCK, 2010) e, portanto, são compostos importantes para o aroma da carne assada.

O ácido linoleico ao passar por processos térmicos sofre autooxidação, produzindo como intermediários 9- e 13-hidroperóxidos. A clivagem homolítica do 13-hidroperóxido dá origem ao hexanal, enquanto que a clivagem do 9-hidroperóxido forma 2,4-decadial (HO et al., 1989). A retro-aldolização subsequente do 2,4-decadial produz 2-octenal (que possui aroma de amêndoas doces e apresenta *threshold* de 0,003 mg kg⁻¹) e também hexanal (JOSEPHSON e LINDSAY, 1987). A Figura 12 ilustra o mecanismo de formação destes compostos.

Figura 12- Formação de aldeídos hexanal e 2-octenal a partir da degradação do ácido linoleico.

Fonte: Adaptado de SAHIDI, 1994.

Alguns álcoois identificados na amostra de carne de frango, como 1-octen-3-ol, octanol e tetradecanol advém da degradação oxidativa de produtos lipídicos. Nestes processos os hidroperóxidos formados na etapa de propagação são clivados para dar origem a um radical lipídico e um hidróxi radical. Os produtos de cisão formados dependem da quantidade do ácido graxo presente, os isômeros dos radicais formados e da estabilidade de decomposição dos produtos (FRANKEL, 1983; SHAHIDI, 1994). A formação do 1-octen-3-ol está

relacionada à degradação oxidativa do ácido araquidônico, que pode gerar dois isômeros intermediários, 10- e 12-hidroperóxidos, sendo a clivagem do 12-hidroperóxido responsável pela formação do 1-octen-3-ol. A Figura 13 ilustra o mecanismo de formação deste álcool a partir de ácidos graxos.

Figura 13 - Formação de 1-octen-3-ol a partir da degradação do ácido araquidônico.

Fonte: Adaptado de SAHIDI, 1994.

Para a classe dos furanos, o composto 2-pentilfurano também é um produto de autooxidação lipídica, mais especificamente do ácido linoleico. O mecanismo é semelhante ao ilustrado anteriormente para a formação hexanal, com formação dos intermediários 9- e 13-hidroperóxidos, porém a clivagem ocorre no carbono 10, dando origem ao 9-hidroperóxido. A

clivagem do 9-hidroperóxido, na presença de oxigênio, produz o vinil hidroperóxido. Este sofre ciclização, via alcóxi radical para gerar o 2-pentilfurano (SHAHIDI, 1994; FRANKEL, 2005). O mecanismo proposto para formação do 2-pentilfurano pode ser observado na Figura 14.

Figura 14 - Formação de 2-pentilfurano a partir da degradação do ácido linoleico.

Fonte: Adaptado de SAHIDI, 1994.

De modo geral, alquilpirazinas são descritas com odores característicos de nozes e tostado com valores de *threshold* de 400- 1500 ppb para a 2,6-dimetil-pirazina e 0,5-1,00 ppm para 3,5-dietil-2-metil-pirazina. A classe das pirazinas compreende compostos heterocíclicos formados majoritariamente em temperaturas entre 120 a 150 °C (MÜLLER & RAPPERT, 2009). Pode-se citar alguns dos compostos que foram identificados, como a 2,6-dimetil-pirazina, 2-etil-3,5-dimetilpirazina e 3,5-dietil-2-metil-pirazina cuja provável origem está relacionada a condensação de α e β -aminocetonas formadas durante a degradação de *Strecker*

(SHAHIDI, 1994; FARMER, 1999). Os grupamentos nitrogenados advêm dos aminoácidos encontrados em proteínas e os grupamentos carbonílicos advêm de açúcares redutores como a glicose. Alguns estudos foram conduzidos com reações térmicas entre aminoácidos e açúcares, um exemplo é o estudo de Kato et al. (1973 apud Nollet., 2010), que obtiveram 5 alquil pirazinas por meio do aquecimento da glucose com a cisteína.

A formação da 2-etil-3,6-dimetil-pirazina, cujo valor de *threshold* em água é $9 \mu\text{g L}^{-1}$, e da trimetil-pirazina, com valor de *threshold* de $90 \mu\text{g L}^{-1}$ envolve a reação de *Strecker* que se inicia entre o aminoácido alanina e uma molécula de 2-oxopropanal, resultando em acetaldeído, aminoacetona e 2-aminopropanal. A condensação de duas moléculas de aminoacetona e duas moléculas de 2-aminopropanal, resultam em um intermediário, a 3,6-dimetil-dihidropirazina, que realiza um ataque nucleofílico ao carbono carbonílico de uma molécula de acetaldeído presente no meio. Após a perda de uma molécula de água e um rearranjo intramolecular, forma-se a 2-etil-3,6-dimetil-pirazina (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009). O provável mecanismo que explica sua formação pode ser observado na Figura 15.

Figura 15- Provável mecanismo para formação 2-etil-3,6-dimetil-pirazina.

Fonte: Adaptado de Belitz, Grosch e Schieberle, 2009.

Um mecanismo semelhante também explica a formação da 2-etil-3,5-dimetil-pirazina, cujo valor de *threshold* corresponde a $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$ em água, e o intermediário, 3-5-dimetil-dihidropirazina que é produzido pela condensação de uma molécula de 2-aminopropanal e uma molécula de aminoacetona. Observando mais de perto os mecanismos pode-se dizer que são duas vias que se iniciam com os mesmos precursores. A formação da 2-etil-3,6-dimetil-pirazina é favorecida, pois as reações que envolvem a degradação de *Strecker* produzem uma menor quantidade de 2-aminopropanal do que aminoacetona, pois o grupo aldeído do 2-oxopropanal é mais reativo que seu grupo ceto (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

Outra classe importante de compostos voláteis identificados em carne de frango assada são os compostos sulfurosos, que em sua maioria possuem baixos valores de *threshold*, o que compensa a baixa concentração destes compostos na carne assada, desse modo, eles são importantes na contribuição do aroma total de carnes assadas. Os seus descritores de odor são relacionados a cheiro de repolho, alho, cebola e algumas vezes aromas cárneos.

A maioria dos compostos voláteis sulfurosos são formados através do aquecimento dos alimentos, via reações não-enzimáticas, ou seja, são oriundos da degradação de um ou dois constituintes solúveis em água, como vitaminas, açúcares, aminoácidos, dentre outros. É possível obter compostos sulfurosos por meio de reações entre compostos dicarbonílicos e H_2S , oriundos da reação de Maillard e da degradação de vitaminas, como a tiamina. Podem ser formados cerca de 41 compostos sulfurosos durante o aquecimento de cisteína e xilose em tributirina em temperatura de 200°C , dentre eles estão 20 tiazóis, 11 tiofenos, 2 ditiolanos e 1 dimetiltritiolano (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009). A reação de Maillard, suas principais etapas e alguns produtos de formação serão discutidos na seção 3.4.

A formação do composto 2-pentiltiofeno (odor característicos de produtos cárneos) é encontrado em carne de aves na concentração de $0,1$ a $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ FEMA (2007 apud BURDOCK, 2010). Este composto foi identificado nas amostras de carne de frango asada e está relacionado com as reações entre cisteína e ribose, oriundos de nucleotídeos e à degradação de *Strecker* (DONALD, 1998; FARMER, 1999; VAN BOEKEL, 2006; UEKANE; ROCHA-LEÃO; REZENDE, 2013). A cisteína pode sofrer degradação de *Strecker* ou hidrólise para gerar o sulfeto de hidrogênio, um intermediário essencial na formação de compostos sulfurosos heterocíclicos, pois atua na degradação de açúcares como a ribose e pode reagir com produtos da degradação lipídica. Os prováveis mecanismos de formação para tiofenos e piridinas a partir do 2,4-decadienal, um dos produtos majoritários da oxidação lipídica de ácidos graxos poli-insaturados, podem ser observados na Figura 16.

Figura 16 - Rotas de formação de compostos nitrogenados e sulfurosos a partir do 2,4-decadienal com sulfeto de hidrogênio e amônia. Para R= C₄H₉, os produtos formados são I-2-butilpiridina, II-2-pentiltiofeno e III- 2-butil-2H-tiopirano.

Fonte: Adaptado de Shahidi, 1994.

Uma das vias de formação de sulfeto de hidrogênio é através da degradação de *Strecker* da cisteína, que reage com um grupo dicarbonil oriundo dos açúcares presentes no meio, eliminando uma molécula de água. Em seguida o intermediário sofre rearranjo intramolecular e libera uma molécula de CO₂. Um novo rearranjo intramolecular libera sulfeto de hidrogênio. O mecanismo proposto é ilustrado na Figura 17.

A degradação de *Strecker* é parte das reações de descarboxilação oxidativa de aminoácidos que podem ser afetadas pelas condições da reação e dos reagentes disponíveis no

meio. Na reação acima, o composto dicarbonílico atua como agente oxidante e provoca a descarboxilação do aminoácido. Uma segunda via, pode levar a reação de hidrólise da imina resultante, produzindo NH_3 livre no meio e, aminas primárias como α -ceto aminas e aldeídos, conhecidos como aldeídos de *Strecker* (YAYLAYAN, 2003).

Figura 17 - Degradação de Strecker da cisteína com liberação de sulfeto de hidrogênio, importante intermediário nas reações de formação de compostos sulfurados de impacto no aroma da carne assada de frango.

Fonte: Adaptado de YAYLAYAN, 2003.

A degradação de *Strecker* ocorre na presença de aminoácidos dicarbonílicos que advém da reação de Maillard. A reação de Maillard ocorre nos alimentos quando submetidos ao cozimento. Esta reação depende de fatores como reatividade do açúcar e do aminoácido, atividade de água, temperatura e pH do meio. A reação de Maillard é a responsável pelo aroma e coloração de alimentos cozidos, assados ou torrados como pães, bolos, café, cerveja, carnes assadas, dentre outros. A reação de Maillard é conhecida como reação de

escurecimento não enzimático, pois não depende da presença de enzimas para ocorrer. No produto final são encontrados compostos de aroma e cor como as melanoidinas, polímeros responsáveis pela coloração de alimentos cozidos (NURSTEN; 2005; OETTERER; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2006; FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; SHIBAO; BASTOS, 2011).

Na carne assada de frango podemos observar que muitos compostos voláteis formados, como cetonas, aldeídos, pirazinas, compostos sulfurosos, pirróis, dentre outros, são resultados das reações de Maillard e até mesmo podem ser formados a partir da interação de produtos destas reações com produtos das reações de oxidação lipídica, como é o exemplo de tiazóis, pirazinas ramificadas de cadeia longa e tritiolanos (SHI & HO; 1994).

A reação pode ser dividida em etapas para uma melhor compreensão. Para que ela ocorra são necessários um grupamento amino e um grupamento carbonila (Figura 18). O aminoácido, fornece o grupamento amino e uma molécula de açúcar redutor, fornece o grupamento carbonila (aldeído ou cetona). Na presença de calor e água, ocorre uma reação de condensação entre os grupamentos ceto e amino. O intermediário gerado se desidrata e leva a formação de uma imina, também denominada base de *Schiff*. Por ser um composto instável, a base de *Schiff* pode assumir uma forma cíclica estável, a glicosilamina, ou sofrer um rearranjo, denominado rearranjo de Amadori que irá formar os produtos de Amadori como é o caso da 1-amino-1-deoxi-2-glicose, N substituída (OETTERER; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2006).

Figura 18 - Produtos da reação da D-glicose com uma amina primária.

Fonte: Adaptado de FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010.

No rearranjo de Amadori ocorre a protonação do nitrogênio da imina e formação do cátion da base de *Schiff*, que é capaz de doar prótons. A saída de um próton do produto de Amadori leva a formação de um enol N-substituído, que, por não ser muito estável isomeriza-se na forma ceto, 1-amino-1-deoxi-2-cetose, N substituída, se tiver como origem um polihidroxialdeído como a glicose. Por outro lado, se advir de uma polihidroxicetona como a frutose dá origem a 1-amino-2-deoxi-2-cetose.

A seguir, a reação de Maillard pode seguir por dois caminhos. Esta etapa é ilustrada na Figura 19. O primeiro caminho ocorre quando o pH do meio é ácido via enolização-1,2 do produto de Amadori. A reação dá origem ao 1,2-enaminol cujo intermediário catiônico, o 2,3 enol, que na presença de água perde um grupamento amino e dá origem à 3-deoxisona, um composto muito reativo, que leva a formação do 5-hidroximetilfurfural (5-HMF). Através de uma série de reações irreversíveis, o 5-HMF reage com outros intermediários e finalmente polimeriza-se originando as melanoidinas que dão cor escura de produtos assados (OETTERER; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2006).

Figura 19 - Conversão do produto de Amadori em voláteis e melanoidinas.

Fonte: Adaptado de Nursten, 2005.

O segundo caminho ocorre se a reação estiver em meio básico via enolização-2,3 e dá origem ao 2,3-enediol. A perda de uma amina dá origem ao 1-metil-2,3-dicarbonil, um composto muito reativo que dá origem a uma reductona que pode sofrer fissão, o que resulta em furanonas, metil reductonas e compostos alfa-dicarbonilados que, na presença de aminas, polimerizam-se e formam as melanoidinas.

Compostos como as reductonas conferem aroma de caramelo para os alimentos. A dehidroreductona, forma desidratada da reductona, explica o poder de redução que se desenvolve durante o escurecimento de alimentos, que adquirem cor característica marrom, quando da presença de aminas (NURSTEN, 2005).

Compostos como o maltol e isomaltol conferem aroma doce e agradável. Estes compostos podem ser formados a partir da desidratação de hexoses, sua concentração no meio aumenta conforme as condições de tempo e temperatura aumentam durante o processo de cocção de um alimento (5 a 15 min a 130 °C) (NURSTEN, 2005). Estes e todos os compostos da fragmentação do açúcar tem importância para o aroma de alimentos. As reações de fragmentação ocorrem via retroaldolização oxidativa, uma etapa importante do mecanismo no qual a frutose-1,6-difosfato é quebrada em dihidroxiacetona-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato, e via mecanismo EMP (Embden–Meyerhof–Parnas) formando compostos cíclicos, como o glioxal formado a partir da oxidação do glicolaldeído e o 2-oxoproanal obtido a partir da

retroaldolização da 3-deoxiglucosona. Nesta etapa ocorre também a liberação de CO₂ devido a degradação de aldeídos aminoácidos (OETTERER; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2006).

2.4.4 Análise dos compostos voláteis por SPME para as amostras de carne de frango suplementados com beta-ácidos de lúpulo.

Após realizar extrações em triplicata nas condições ótimas para extração dos voláteis para a carne de frango comercial com a fibra de CAR/PDMS, o procedimento foi repetido, nas mesmas condições para as amostras de carne de frango suplementadas com beta-ácidos do lúpulo. Os compostos identificados para todas as amostras nas condições ótimas, com seus respectivos descritores de odor e índices LTPRI encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8-Compostos voláteis identificados por HS-SPME e GC-MS em amostras de carne assada de frango com e sem suplementação de β -ácidos do lúpulo nas condições ótimas de extração. Resultados expressos em porcentagem de área relativa.

NOME	LTPRI _{cal.}	LTPR _{lit.}	Δ	0 mg kg ⁻¹	30 mg kg ⁻¹	60 mg kg ⁻¹	120 mg kg ⁻¹	Descritor de odor
ALDEÍDOS								
benzaldeído	970	971	1	8,35 ^a ±1,26	9,26 ^a ±0,33	8,69 ^a ±0,71	8,22 ^a ±0,71	frutado
(Z)-13-octadecenal	2007	2007	0	0,12 ^{a,b} ±0,01	0,03 ^b ±0,01	0,13 ^a ±0,05	0,07 ^{a,b} ±0,04	cera
(E)-2-decenal	1270	1265	-5	0,07 ^b ±0,02	0,15 ^b ±0,07	0,07 ^b ±0,02	0,38 ^a ±0,08	verde, gorduroso, frutado
(E)-2-heptenal	965	964	-1	0,15 ^a ±0,05	0,07 ^a ±0,07	0,08 ^a ±0,00	0,32 ^a ±0,16	verde, gorduroso, frutado
(E)-2-undecenal	1371	1370	1	-	ND	ND	ND	cera, cárneo, verde
2-fenil-2-butenal	1280	1281	-1	0,09 ^b ±0,04	0,27 ^a ±0,03	0,06 ^b ±0,02	0,31 ^a ±0,19	carne assada, verde, noz
2-nonenal	1167	1168	1	0,19 ^b ±0,04	0,13 ^b ±0,03	0,21 ^b ±0,07	0,48 ^a ±0,13	gorduroso, cera, frango
2-butil, (Z) 2-octenal	1372	1372	0	0,12 ^a ±0,04	0,09 ^a ±0,04	-	-	-
(Z)-9-octadecenal	2001	2007	-6	0,32 ^a ±0,18	0,15 ^a ±0,03	0,42 ^a ±0,18	0,25 ^a ±0,12	gorduroso
decanal	1210	1208	-2	3,29 ^{a,b} ±0,55	2,94 ^b ±0,18	3,42 ^{a,b} ±0,16	3,89 ^a ±0,15	doce, cera, aldeído, cítrico
dodecanal	1414	1415	-1	0,41 ^b ±0,09	0,44 ^{a,b} ±0,10	0,50 ^{a,b} ±0,09	0,80 ^a ±0,21	sabão, cera, cítrico
fenilacetaldéido	1055	1051	4	0,83 ^a ±0,17	1,73 ^a ±0,53	0,63 ^a ±0,03	0,91 ^a ±0,43	verde, doce, floral, tabaco
heptadecanal	1925	1920	5	0,08 ^a ±0,01	0,04 ^a ±0,00	0,06 ^a ±0,03	0,07 ^a ±0,02	-
heptanal	909	910	1	2,40 ^a ±0,12	1,83 ^{a,b} ±0,08	1,73 ^b ±0,17	1,97 ^{a,b} ±0,43	verde, gorduroso
hexadecanal	1823	1825	2	10,86 ^{a,b} ±0,51	9,14 ^b ±0,44	13,36 ^a ±2,57	9,75 ^{a,b} ±1,41	papel cartão
hexanal	807	806	-1	20,73 ^a ±1,19	17,63 ^a ±1,77	21,76 ^a ±3,39	21,81 ^a ±0,14	grama, gorduroso, sebo
etilbenzaldeído	1172	1168	-4	-	0,11 ^b ±0,02	-	0,86 ^a ±0,24	doce, herbáceo
nonanal	1110	1108	-2	13,96 ^a ±0,50	10,74 ^b ±0,32	12,33 ^{a,b} ±0,36	11,13 ^b ±1,32	gorduroso, doce, cítrico, verde
octadecanal	2027	2021	6	0,35 ^{a,b} ±0,05	0,18 ^b ±0,03	0,52 ^a ±0,18	0,35 ^{a,b} ±0,12	oleoso
octanal	1010	1007	-3	8,15 ^{a,b} ±0,16	8,94 ^a ±0,77	5,19 ^{b,c} ±2,53	4,08 ^c ±0,70	cera, gorduroso, cítrico
pentadecanal	1720	1721	1	0,57 ^{a,b} ±0,12	0,43 ^b ±0,11	0,73 ^{a,b} ±0,26	1,03 ^a ±0,33	fresco, cera
2-metil-pentanal,	746	746	0	1,83 ^a ±0,68	2,05 ^a ±1,22	1,76 ^a ±0,32	1,60 ^a ±0,66	éter, frutado
tetradecanal	1618	1617	1	0,54 ^b ±0,12	0,51 ^b ±0,14	0,72 ^{a,b} ±0,18	1,07 ^a ±0,25	gorduroso, cera, seco, cítrico
(E, E)-2,4-decadienal	1330	1325	5	ND	ND	ND	0,12 ^a ±0,05	oleoso, gordura de frango e doce

Continuação da Tabela 8

(E)-2-octenal	1065	1070	-5	0,62 ^b ±0,12	0,73 ^{a,b} ±0,15	0,55 ^b ±0,11	1,02 ^a ±0,09	-
tridecanal	1517	1513	4	0,20 ^a ±0,06	0,20 ^a ±0,09	0,28 ^a ±0,10	0,44 ^a ±0,11	floral, aldeídico, cítrico, cera
undecanal	1313	1314	-1	0,36 ^a ±0,05	0,30 ^a ±0,07	0,34 ^a ±0,04	0,43 ^a ±0,07	cera, sabão, verde, gorduroso
ÁCIDOS CARBOXÍLICOS								
ácido tetradecanóico	1772	1770	2	0,03 ^a ±0,02	0,05 ^a ±0,01	0,02 ^a ±0,01	0,03 ^a ±0,00	cera, gorduroso, sabão, coco
ácido hexadecanóico	1973	1968	5	0,54 ^a ±0,08	0,57 ^a ±0,21	0,33 ^a ±0,08	0,36 ^a ±0,07	cera, cheiro de vela
ACETAIS								
4-metil-2-pentil-1,3-dioxolano	1096	1097	1	0,87 ^a ±0,24	0,53 ^b ±0,03	0,28 ^b ±0,08	0,34 ^b ±0,04	frutado
ALCÓOIS								
(E)-2-decen-1-ol	1273	1273	0	0,09 ^a ±0,02	-	0,06 ^b ±0,02	-	cera, fresco, cítrico
tetradecanol	1677	1671	6	ND	ND	ND	0,02 ^a ±0,00	coco, frutado, cera, lírio
7-tetradecanol	1568	1575	7	-	0,03 ^a ±0,01	-	-	-
1-undecanol	1372	1371	1	-	0,11 ^b ±0,08	-	0,41 ^a ±0,06	fresco, cera, rosa
dodecanol	1483	1482,8	0	0,04 ^a ±0,00	0,04 ^a ±0,01	ND	0,08 ^a ±0,03	terroso, cera, gorduroso
tridecanol	1580	1585	5	-	-	-	0,02 ^a ±0,00	mofado
5-metil-2-(1-metiletil)-1-hexanol	1076	1066	-10	0,08 ^a ±0,06	0,27 ^a ±0,02	0,08 ^a ±0,02	0,05 ^a ±0,03	-
1-octen-3-ol	985	985	0	3,10 ^a ±0,98	1,88 ^a ±0,47	2,70 ^a ±0,44	3,25 ^a ±0,28	terroso, verde, oleoso, fungo
1-hexadecanol	1885	1882	3	ND	0,03 ^a ±0,00	ND	0,02 ^a ±0,00	floral, cera, herbal
1-heptadecanol	1941	1941	0	ND	ND	-	-	
ciclopentanol	763	765	2	ND	1,29 ^a ±0,28	ND	ND	pungente
HIDROCARBONETOS								
p-xileno	875	877	2	0,20 ^a ±0,09	0,06 ^a ±0,01	ND	ND	alcano
tolueno	784	784	0	1,08 ^a ±0,02	0,65 ^a ±0,57	1,03 ^a ±0,07	0,80 ^a ±0,10	-
undecano	1100	1100	0	0,49 ^a ±0,05	0,47 ^a ±0,07	ND	0,34 ^a ±0,00	-
1-tetradeceno	1392	1393	-1	0,55 ^a ±0,09	0,54 ^a ±0,18	0,63 ^a ±0,10	0,59 ^a ±0,07	alcano, suave, cera
dodecano	1200	1200	0	1,04 ^a ±0,10	1,30 ^a ±0,15	1,17 ^a ±0,02	1,30 ^a ±0,14	alcano, gasolina
pentadeceno	1493	1492	0	0,07 ^a ±0,00	0,09 ^a ±0,03	0,08 ^a ±0,03	0,12 ^a ±0,03	alcano

Continuação da Tabela 8

4-decino	1037	1033	-4	0,11 ^a ±0,03	0,10 ^a ±0,03	0,11 ^a ±0,02	0,16 ^a ±0,04	-
tetradecano	1399	1400	-1	0,80 ^a ±0,08	0,94 ^a ±0,28	0,81 ^a ±0,11	0,95 ^a ±0,05	-
pentadecano	1500	1500	0	0,50 ^a ±0,01	0,50 ^a ±0,14	0,59 ^a ±0,12	0,64 ^a ±0,17	gasolina
heptadecano	1699	1700	-1	0,09 ^a ±0,01	0,08 ^a ±0,02	0,08 ^a ±0,02	0,06 ^a ±0,02	alcano
1-heptadeceno	1693	1696	-3	0,02 ^a ±0,00	-	ND	-	-
etilbenzeno	865	868	3	0,06 ^a ±0,02	0,05 ^a ±0,02	ND	ND	alcano
octano	802	800	-2	0,28 ^a ±0,04	0,23 ^a ±0,00	0,13 ^a ±0,08	0,16 ^a ±0,09	-
1-dodeceno	1192	1191	-1	0,23 ^b ±0,05	0,54 ^a ±0,20	0,30 ^{a,b} ±0,04	0,34 ^{a,b} ±0,08	-
decano	1000	1000	0	ND	0,64 ^a ±0,01	0,49 ^a ±0,12	0,49 ^a ±0,09	-
5-dodecen-7-ino, (E)	1229	1239	10	ND	0,10 ^a ±0,05	ND	ND	alcano
tetradecano, 3-metil-	1446	1448	2	ND	0,02 ^a ±0,01	-	0,02 ^a ±0,01	alcano
ciclopentano, nonil-	1450	1451	-1	0,05 ^a ±0,02	0,09 ^a ±0,06	0,05 ^a ±0,00	0,04 ^a ±0,00	alcano
hexadecano	1600	1600	0	0,26 ^a ±0,04	0,27 ^a ±0,04	0,23 ^a ±0,04	0,20 ^a ±0,01	alcano
octadecano	1800	1800	0	0,09 ^a ±0,00	0,07 ^{a,b} ±0,01	0,07 ^{a,b} ±0,01	0,06 ^b ±0,00	-
tridecano	1300	1300	0	1,17 ^a ±0,25	1,14 ^a ±0,34	1,26 ^a ±0,27	1,71 ^a ±0,22	-
1-hexadeceno	1593	1590	3	0,17 ^a ±0,04	0,05 ^b ±0,01	0,13 ^a ±0,03	0,15 ^a ±0,03	-
nonadecano	1900	1900	0	0,19 ^a ±0,02	0,09 ^b ±0,02	0,10 ^b ±0,03	0,06 ^b ±0,00	alcano
heneicosano	2100	2100	0	0,02 ^a ±0,00	0,02 ^a ±0,01	0,02 ^a ±0,00	-	-
docosano	2199	2200	-1	ND	0,08 ^a ±0,02	ND	ND	alcano
1-undeceno	1092	1093	-1	0,68 ^a ±0,16	0,41 ^a ±0,05			
tricosano	2300	2300	0	ND	-	ND	-	alcano
CETONAS								
3-octanona, 2-metil-	990	988	-2	1,41 ^a ±0,19	1,56 ^a ±0,07	1,47 ^a ±0,45	1,48 ^a ±0,36	-
2-pentadecanone	1703	1702	-1	0,03 ^a ±0,00	0,02 ^a ±0,01	-	0,03 ^a ±0,01	fresco, jasmim, aipo
geranilacetona	1454	1452	2	0,14 ^a ±0,01	0,13 ^a ±0,02	0,07 ^a ±0,03	0,09 ^a ±0,01	floral, fresco, sabão
2-decanone	1195	1191	-4	ND	0,15 ^a ±0,02	-	0,12 ^a ±0,01	laranja, floral, gorduroso
ÉSTERES								

Continuação da Tabela 8

metil octadecanoato	2131	2128	3	ND	ND	0,08 ^a ±0,01	-	oleoso, cera
etil hexadecanoato	1997	1994	-3	0,03 ^a ±0,00	ND	-	-	cera, frutado, leitoso
ácido octadecanóico, 2-etilhexil éster	1706	1715	9	0,04 ^{a,b} ±0,01	0,05 ^a ±0,01	0,03 ^{a,b} ±0,01	0,02 ^b ±0,00	frutado
metil hexadecanoato	1931	1927	4	0,03 ^a ±0,01	-	-	-	oleoso, gorduroso, cera
LACTONAS								
2-pentilfurano	998	993	-5	6,09 ^a ±0,37	4,94 ^a ±0,49	6,25 ^a ±0,66	6,35 ^a ±0,90	verde, metálico, feijão
2-pentiltiofeno	1164	1169	5	0,09 ^a ±0,02	0,12 ^a ±0,00	0,09 ^a ±0,00	0,13 ^a ±0,04	gorduroso, cárneo, sangue
SULFUROSOS								
cyclic octaatomic sulfur	2074	2083	-9	1,46 ^a ±0,18	1,41 ^a ±0,25	1,42 ^a ±0,45	1,04 ^a ±0,49	-
tetrasulfeto, dimetil	1224	1223	1	ND	0,06 ^a ±0,02	ND	-	alho, cárneo, sulfuroso
PIRAZINAS								
2,6-dimetil, pirazina	924	925	1	1,51 ^b ±0,36	5,12 ^a ±1,41	1,60 ^b ±0,35	1,36 ^b ±0,25	chocolate, assado, noz, cárneo
2,3,5,6-tetrametil, pirazina	1089	1087	2	0,28 ^b ±0,03	0,82 ^a ±0,20	0,83 ^a ±0,13	0,58 ^{a,b} ±0,00	noz, chocolate, café, cacau
3-etil-2,5-dimetil, pirazina	1089	1091	2	0,85 ^b ±0,14	2,33 ^a ±0,51	0,84 ^b ±0,25	1,36 ^b ±0,25	batata, coco, assado, noz
2-etil-6-metil, pirazina	1006	1007	1	ND	0,75 ^b ±0,21	0,42 ^b ±0,03	3,34 ^a ±0,62	batata assada
2,3,5-trimetil pirazina	1009	1005	-4	ND	ND	3,52 ^a ±0,63	ND	noz, mofado, cacau, batata e pó
2,3-dietil-5-metilpirazina	1159	1158	1	0,10 ^a ±0,04	0,21 ^a ±0,07	0,09 ^a ±0,05	ND	torrado, noz, batata, cacau
3,5-dietil-2-metil-pirazina	1161	1156	-5	ND	0,12 ^a ±0,06	-	0,10 ^a ±0,04	noz, cárneo e vegetal
2-butil-3,5-dimetil, pirazina	1305			0,07 ^a ±0,01	0,11 ^a ±0,04	ND	0,04 ^a ±0,02	doce, terroso
3,5-dimetil-2-isobutil, pirazina	1318			0,21 ^{b,c} ±0,04	0,52 ^a ±0,05	0,11 ^c ±0,04	0,30 ^b ±0,08	-
2-hexil-6-metil, pirazina	1256			ND	0,04 ^a ±0,02	ND	0,05 ^a ±0,02	-
2-etil-3,5-dimetil-, pirazina	1088	1081	-7	ND	0,82 ^a ±0,20	ND	ND	assado, noz, amendoim
THIAZOL								
thiazolidine-2,4-dione, 3-methyl-5-(3,4-methylenedioxybenzylideno)-	2333	2334	-1	0,08 ^a ±0,02	0,06 ^{a,b} ±0,01	0,04 ^b ±0,01	0,04 ^b ±0,00	-

Fonte: Autoria Própria. LTPRI_{Calc.} = Índice de retenção obtido usando coluna capilar 5%difenil 95% dimetil- polisiloxano. LTPRI_{Lit.} = Índice de retenção obtido usando coluna capilar 5% difenil 95% dimetil- polisiloxano. Δ= diferença entre LTPRI calculado e LTPRI encontrados na literatura: LTPRI_{Lit.} - LTPRI_{Calc.} ND: Não detectado. Áreas indicadas com traço: composto encontrado em nível traço, área relativa ≤ 0,01. Médias com letras distintas sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística (P < 0,05).

Deve-se considerar que a extração e concentração dos voláteis por SPME resultam do particionamento e do equilíbrio dos voláteis entre a amostra, o *headspace* e a fibra de SPME, e que cada volátil possui seu coeficiente de partição. Assim, não é possível quantificar ou semi-quantificar os componentes presentes na amostra sem levar em consideração o equilíbrio individual de cada componente químico (NONGONIERMA, CAYOT, LE QUÉRÉ, SPRINGETT, & VOILLEY, 2006). Assim, dado objetivo desta pesquisa, a complexidade das amostras e o número de compostos identificados, não são apresentados dados quantitativos dos voláteis presentes nas amostras. São fornecidos apenas valores de % relativa (Tabela 8) que não representam as quantidades reais dos voláteis nas amostras, servindo apenas como um parâmetro para comparar as variações dos voláteis relacionadas aos diferentes graus de suplementação das dietas dos animais com β -ácidos do lúpulo.

Foram identificados um total de 95 voláteis nas amostras de carne assada de frango. Na classe dos aldeídos pode-se destacar que as amostras de carne de frango tratadas com 30 mg kg⁻¹ de beta-ácidos de lúpulo apresentaram maior área significativa para o composto octanal ($P < 0,05$), se comparada a amostra controle, sem adição de lúpulo. Este resultado está em acordo com o que foi observado por Zawadzki et al., (2018) e Bortoluzzi et al., (2015, 2014) no qual a carne de frango de animais que foram suplementadas com 30 mg kg⁻¹ de beta-ácidos de lúpulo apresentaram maior nível de ácidos graxos insaturados de cadeia longa (n-3 e n-6), o que indica que a oxidação lipídica desses ácidos graxos produziu maiores quantidades de aldeídos como octanal (notas de aroma gorduroso e cítrico) e (E)-2-octenal (gorduroso).

O composto 2-fenil-butenal (notas de carne assada, gramíneo e nozes), apresentou maior área relativa ($p < 0,05$) para os tratamentos com 30 e 120 mg kg⁻¹ de beta-ácidos de lúpulo. Essa informação nos permite relacionar os dados obtidos por um trabalho do nosso grupo de pesquisa (ZAWADZKI et al., 2018) onde foram observados maiores níveis de alanina na carne dos animais que receberam suplementação com 30 mg kg⁻¹ de beta-ácidos de lúpulo, uma vez que a alanina é um dos prováveis precursores da formação do acetaldeído e fenilacetaldeído (BURDOCK, 2010). A alanina e outros aminoácidos são precursores importantes na degradação de *Strecker*. Neste mecanismo a interação dos compostos dicarbonílicos formados com os aminoácidos do meio produz aldeídos e outros compostos participantes da reação de Maillard, que culmina na formação de compostos chave para o aroma da carne de frango, como ilustrado e discutido no item 2.4.3.

Dentre as pirazinas a 2,6-dimetil pirazina (aroma de chocolate, assado, nozes e cárneo), 3-etil-2,5-dimetil pirazina (batata cozida, coco, assado, nozes) e 3,5-dimetil-2-isobutil-

pirazina que se destacam pela diferença estatística entre os tratamentos. As amostras suplementadas com 30 mg kg⁻¹ de beta-ácidos de lúpulo apresentaram área relativa significativamente maior ($P < 0,05$) que a amostra não suplementada com beta-ácidos de lúpulo e maior do que as amostras suplementadas com 120 e 240 mg kg⁻¹ de beta-ácidos. Segundo dados encontrados por Zawadzki et al., (2018) a amostra de animais que receberam 30 mg kg⁻¹ de beta-ácidos de lúpulo apresentou maior quantidade de glicose (6.50 ± 1.50 , $P \leq 0,05$) do que a amostra controle (5.56 ± 0.54 , $P \leq 0,05$), este dado permite correlacionar a maior área relativa observada para as pirazinas descritas acima com uma quantidade maior de glicose encontrada nas amostras com 30 mg kg⁻¹ de beta-ácidos, pois esta é um dos principais precursores de pirazinas, pois juntamente com a lisina, forma compostos chave para o aroma a partir da reação de Maillard. Outra rota de formação de pirazinas, tiazóis e tióis envolve a interação entre os produtos da reação de Maillard e os produtos da oxidação lipídica.

Na Figura 20 é apresentado o cromatograma da amostra de carne de frango cujos animais foram suplementados com 30 mg kg⁻¹ de beta-ácidos de lúpulo. Neste cromatograma foram identificados 84 compostos voláteis. Os compostos identificados para todas as amostras extraídas nas condições ótimas com seus respectivos descritores de odor e índices LTPRI encontram-se na Tabela 8.

Diversas classes químicas foram encontradas na fração volátil da carne assada de frango, para a amostra controle, 0 mg kg⁻¹ foram identificados 72 compostos. Para as amostras com 60 e 120 mg kg⁻¹ foram identificados 84, 72 e 81 compostos voláteis, respectivamente. O perfil de voláteis foi constituído pelas seguintes classes químicas: aldeídos, alcanos, álcoois, ésteres, pirazinas, cetonas, ácidos carboxílicos, alcenos, compostos sulfurosos, lactonas, acetais e tiazol.

Figura 20 - Cromatograma dos voláteis em carne assada de frango suplementada com 30 mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo, por SPME e GC-MS com destaque para os compostos majoritários.

Fonte: autoria própria. Legenda: 1. hexanal; 2. 2,6-dimetil, pirazina (compostos chave para o aroma de carne assada de frango); 3. benzaldeído; 4. 1-octen-3-ol (compostos chave); 5. 2-pentilfurano; 6. octanal; 7. fenilacetaldeído; 8. trans-2-octenal; 9. nonanal (compostos chave); 10. 3,5-dietil-2-metil-pirazina (composto chave); 11. decanal (composto chave); 12. dodecanal; 13. tridecanal; 14. pentadecanal; 15. hexadecanal.

Os compostos destacados são considerados de importância odorífera para o aroma da carne assada de frango, como a 2,6-dimetil pirazina, que possui aroma que remete a notas de chocolate, nozes e produtos cárneos. Esta pirazina apresenta um *threshold* de 400 - 500 μ L⁻¹. Sua ocorrência natural é reportada em carnes bovinas e de frango assadas e grelhadas (BURDOCK, 2010). Sua principal origem advém da degradação de *Strecker* de aminoácidos como a cisteína e reações de quebra de moléculas de açúcar (FARMER, 1999).

O 1-octen-3-ol, composto identificado apenas na amostra controle e no tratamento com 30 mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo, possui aroma com notas preponderantes de cogumelos é um composto chave para o aroma de carne assada, com valor de *threshold* de 14 μ L⁻¹. Este composto pode ser encontrado em quantidades variáveis em alimentos como pães, queijos, ameixas, cogumelos e carnes assadas. O 1-octen-3-ol, assim como outros álcoois identificados, tem sua origem nas reações de degradação oxidativa de produtos lipídicos de ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6 (AYSELI; SELLI; FILIK, 2014), como descrito anteriormente e ilustrado na Figura 13.

O 2-pentilfurano foi encontrado em todas as amostras, incluindo a controle. Este composto é encontrado naturalmente em carnes e peixes assados em concentrações baixíssimas, com valores de detecção da ordem de 6 μ L⁻¹, sendo ele também um composto de impacto para o aroma de carnes assadas. Seus descritores de odor remetem a notas de feijão verde e vegetais cozidos. Outros compostos de impacto identificados nas amostras de carne de frango são o nonanal (com valor de *threshold* de 1 a 8 μ L⁻¹ e descritor de odor gorduroso e

cítrico), 3,5-dietil-2-metil-pirazina (com descritor de odor de nozes e carne) e o decanal (com valor de *threshold* de 0,1 a 6 μL^{-1} e descritor de odor de gordura, cera e floral (SHAHIDI, 1994; FARMER, 1999; JAYASENA et al., 2013).

O composto 2-nonenal foi encontrado em todas as amostras dos animais suplementados com beta-ácidos e é um produto da peroxidação lipídica de ácidos graxos poli-insaturados ômega 6, como o ácido linoleico (C18:2n-6) (SHAHIDI, 1994; FARMER, 1999; JAYASENNA et al., 2013). Os descritores de odor para este composto são gorduroso, verde, cera e carne assada de frango e o seu valor de *threshold* correspondente a 0,1 μL^{-1} . O baixo valor de *threshold* indica grande contribuição para o aroma da carne assada.

Alguns compostos que não foram identificados nas amostras de carne de frango comercial na etapa de escolha e otimização do preparo de amostra por SPME foram encontrados nas amostras de carne de frango suplementadas com beta-ácidos do lúpulo, como é caso da carne dos animais que foram suplementados com 60 e 120 mg kg^{-1} de β -ácidos de lúpulo. Pode-se destacar alguns exemplos como o trans, trans-2,4-decadienal e a tiazolidina-2,4-diona, 3-metil-5-(3,4-metilenodioxibenzilideno). O trans, trans-2,4-decadienal, é gerado a partir da oxidação térmica de ácidos graxos poli-insaturados ômega 6, semelhante ao mecanismo descrito para a formação do hexanal. Segundo dados de FEMA (1994 apud BURDOCK, 2010). este composto é naturalmente encontrado em carnes de frango em uma faixa de concentração de 0,01-0,02 μL^{-1} e possui descritor de odor com notas de gordura e nuances de cheiro de carne assada de frango. O seu valor de *threshold* é da ordem de 0,07 a 10 μL^{-1} , o que implica em um grande impacto para o aroma.

O composto trans – undecenal foi encontrado apenas na amostra controle, este composto possui um odor frutado, cujos principais descritores são notas de frescas de cítrico e gorduroso. É encontrado em produtos cárneos, como carnes bovinas e suínas, na faixa de concentração de 0,01 a 0,05 μL^{-1} FEMA (1994 apud BURDOCK, 2010). Já o tetradecanol, que possui aroma característico de cera, foi encontrado apenas na amostra controle e na amostra referente ao tratamento com 30 mg kg^{-1} . Seus principais descritores de odor são frutado, ceroso, lírio e coco.

O composto 4-metil-2-pentil-1,3-dioxolano pertencente a classe dos acetais e possui odor característico de frutado. Ele foi identificado em todas as amostras, os seus principais descritores de odor são fresco, verde, ceroso e vegetal.

Dentre a classe dos ácidos carboxílicos podemos citar o ácido hexadecanóico e o ácido tetradecanóico cujos descritores de odor são cera, cheiro de vela e gorduroso. O ácido hexadecanóico é normalmente encontrado em produtos cárneos na concentração de 4,10 a 8,90 $\mu\text{ kg}^{-1}$ FEMA (1994 apud BURDOCK, 2010). e o valor de threshold referente ao aroma é de 10 $\mu\text{ kg}^{-1}$.

Na classe das cetonas pode-se citar a 2-decanona, que foi identificada nas amostras referentes a todos os tratamentos com suplementação de beta-ácidos de lúpulo, mas não foi encontrada na amostra controle. A 2-decanona apresenta aroma frutado com descritores de odor laranja, floral, gorduroso e pêssego. É empregada na indústria alimentícia em produtos cárneos, na faixa de na faixa de 1 a 5 $\mu\text{ kg}^{-1}$ FEMA (2007 apud BURDOCK, 2010). A 2-pentadecanona também foi identificada em todas as amostras exceto no tratamento com 60 mg kg^{-1} de beta-ácidos de lúpulo. Possui odor característico frutado, gorduroso e floral, é encontrado naturalmente em carne de frango cozida (BURDOCK, 2010) e apresenta valores de detecção de aroma na ordem de 1 a 7 $\mu\text{ kg}^{-1}$, o que destaca seu baixíssimo *threshold* e consequente importância para o aroma da carne assada de frango.

Dentre os ésteres identificados, destaca-se o metil octadecanoato, nos tratamentos com 60 e 120 mg kg^{-1} de beta-ácidos de lúpulo e o metil hexadecanoato, que foi identificado em todas as amostras e que apresenta notas de odor de cera, oleoso e gorduroso. O etil hexadecanoato foi identificado apenas na amostra controle, ele possui um odor doce e característico de cera e valores de detecção de *threshold* da ordem de 2 $\mu\text{ L}^{-1}$.

Por fim, da classe dos compostos sulfurosos encontrados destaca-se o dimetil tetrasulfeto encontrado nos tratamentos de 60 e 120 mg kg^{-1} de β -ácidos de lúpulo. Seus descritores de odor incluem aroma de alho, carnes e sulfuroso. Dados do *European Food Safety Authority* (2002) reportam o uso deste composto em produtos cárneos, incluindo carnes de aves, cujo valor de concentração encontrado varia de 0,1 a 0,2 $\mu\text{ kg}^{-1}$.

2.4.5 Determinação do teor de gordura e composição de ácidos graxos em amostras de carne de frango com e sem adição de beta-ácidos de lúpulo.

Na Tabela 9 abaixo podem ser observados os dados de massa da carne utilizada para extração de gordura e os respectivos teores de gordura.

De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, TACO, o teor de lipídios esperado para 100 gramas de peito de frango, cru e sem pele é de 3 gramas em 100 de carne ou 3%. Em nossa pesquisa encontramos um teor muito próximo ao da referência (Tabela 9), o que demonstra boa concordância dos resultados obtidos.

Tabela 9-Dados correspondentes ao teor de gordura nas amostras de carne de frango suplementadas com β -ácidos de lúpulo expressos em porcentagem, grama de gordura para cada 100 gramas de carne.

<i>Dieta</i>	<i>Teor de gordura em %</i>
<i>(mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo)</i>	<i>(g gordura por 100 g carne)</i>
0	3,6
30	2,9
60	3,0
120	2,6

Fonte: Autoria própria.

Estudos de Krauss et al. (2000) demonstram que há uma necessidade do mercado avícola em investir em formas de aumentar o nível de ácidos graxos poliinsaturados nas carnes de frango por algumas razões. A dieta humana recomenda reduzir a ingestão de ácidos graxos saturados, pois o alto consumo dos mesmos tem relação direta com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Ácidos graxos poli-insaturados (ômega 3 e ômega 6), se ingeridos na razão adequada, auxiliam na prevenção de doenças arteriais, hipertensão, diabetes, doenças inflamatórias e outras desordens do sistema imunológico (SCHREIN et al., 2005). Outro fator a ser considerado é que adequados níveis de ácidos graxos poli-insaturados na carne de frango facilitaria a exportação da carne para Europa, uma vez que o país tem preferido empregar óleos de origem vegetal na dieta alimentar, por possuírem maior teor de ácidos graxos poli-insaturados (CORTINAS, 2004).

Muitas pesquisas foram desenvolvidas para estudar o efeito da modificação das dietas de frango de corte com relação ao teor de ácidos graxos poli-insaturados, como adição de vitamina E associada a selênio (ZDUŃCZYK et al., 2010; KONIECZKA et al., 2017) e adição de dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados (SIRRI et al., 2003; CORTINAS et al., 2004; SCHREINER et al., 2005). Porém, em nossa revisão bibliográfica não foram encontrados estudos sobre a inserção de beta-ácidos de lúpulo na dieta de frangos de corte e o estudo do efeito da dieta no conteúdo lipídico dessas carnes.

2.4.6 Concentração de ácidos graxos nas amostras de carne de frango com e sem adição de beta-ácidos de lúpulo

Na Tabela 10 abaixo encontram-se os resultados quantitativos do teor de FAME para os tratamentos com 0, 30, 60 e 120. Os resultados são expressos em mg de ácido graxo por grama de gordura.

Quanto aos resultados para ácidos graxos saturados, os tratamentos com 120, 60 e 30 mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo, apresentaram com valores de 251,14; 63,37 e 67,51 mg ácido graxo g⁻¹ de gordura, respectivamente, para ácidos graxos saturados se comparados ao tratamento controle (0 mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo) com 36,09 mg ácido graxo g⁻¹ de gordura.

Por outro lado, o tratamento com suplementação de 120 mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo foi o que indicou maior quantidade de ácidos graxos monoinsaturados dentre todos os tratamentos, cujo valor total correspondia a 109,30 mg ácido graxo g⁻¹ de gordura. Os tratamentos com suplementação de 30 e 60 mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo apresentaram valores semelhante, porém maiores que o valor observado para o tratamento controle (16,74 mg ácido graxo g⁻¹ de gordura).

Dentre os ácidos graxos poli-insaturados destacam-se o ácido araquidônico, 20:4n-6, e o ácido docosahexaenóico. Estudos indicam que o consumo de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3, como o DHA, pode prevenir o desenvolvimento de doenças cardiovasculares arterioscleróticas segundo Bang; Dyerberg; Hjorne (1976) e Siriwardhana; Kalupahana; Moustaid-Moussa, (2012). Pode-se observar que para o tratamento com 120 mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo foi observado o maior teor de DHA, se comparado com o tratamento controle, exibindo um valor quantitativo de 30,35 mg ácido graxo g⁻¹ de gordura, os tratamentos com 30 e 60 mg de β-ácidos de lúpulo apresentaram valores inferiores ao tratamento com 120 mg kg⁻¹, porém maiores que o controle, o que indica consistência com os resultados observados por Bortoluzzi et al., (2015) e Zawadzki et al., (2018).

Tabela 10-Média dos valores de concentração de ácidos graxos para as amostras de carne de frangos suplementados com 0, 30, 60 e 120 mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo. Resultados expressos em mg de ácido graxo por grama de gordura.

Ácido graxo	0 mg de β-ácidos	30 mg de β-ácidos	60 mg de β-ácidos	120 mg de β-ácidos	p Valor
Saturado					
12:0	0,03 ^c ±0,01	0,17 ^b ±0,03	0,05 ^c ±0,01	0,32 ^a ±0,04	1,30.10 ⁻³
14:0	0,49 ^c ±0,02	0,84 ^b ±0,00	0,82 ^{b,c} ±0,05	3,74 ^a ±0,15	7,08.10 ⁻⁶
15:0	0,14 ^b ±0,01	0,23 ^b ±0,02	0,16 ^b ±0,01	0,93 ^a ±0,06	4,61.10 ⁻⁵
16:0	25,09 ^c ±0,71	50,83 ^b ±0,45	43,55 ^b ±2,23	179,34 ^a ±7,03	6,34.10 ⁻⁶
17:0	0,26 ^c ±0,01	0,59 ^b ±0,02	0,58 ^b ±0,05	1,80 ^a ±0,05	5,51.10 ⁻⁶
18:0	9,86 ^c ±0,58	14,52 ^{b,c} ±3,33	17,88 ^b ±0,76	63,90 ^a ±1,33	2,46.10 ⁻⁵
20:0	0,14 ^c ±0,01	0,24 ^b ±0,02	0,22 ^b ±0,01	0,76 ^a ±0,01	1,98.10 ⁻⁶
22:0	0,06 ^c ±0,01	0,09 ^b ±0,01	0,10 ^b ±0,00	0,35 ^a ±0,00	3,73.10 ⁻⁶
<i>Total</i>	36,09	67,51	63,37	251,14	
Monoinsaturado					
14:1	0,06 ^c ±0,01	0,19 ^b ±0,00	0,14 ^{b,c} ±0,01	0,64 ^a ±0,04	4,38.10 ⁻⁵
15:1	0,28 ^c ±0,05	1,06 ^b ±0,07	0,68 ^b ±0,00	2,5 ^a ±0,17	7,55.10 ⁻⁵
16:1	2,88 ^a ±0,09	7,91 ^c ±0,04	5,12 ^b ±0,28	23,98 ^a ±1,03	8,16.10 ⁻⁶
18:1n-9	11,17 ^c ±0,16	17,82 ^{b,c} ±4,17	22,13 ^b ±0,12	68,68 ^a ±1,62	4,40.10 ⁻⁵
t18:1n-9	2,27 ^b ±0,01	4,23 ^b ±0,01	3,38 ^b ±0,14	12,57 ^a ±0,57	1,33.10 ⁻⁴
20:1n-9	0,08 ^c ±0,01	0,14 ^c ±0,01	0,22 ^b ±0,02	0,74 ^a ±0,03	1,04.10 ⁻⁵
22:1n-9	0,02 ^c ±0,00	0,05 ^b ±0,00	0,04 ^{b,c} ±0,00	0,18 ^a ±0,01	7,10.10 ⁻⁵
<i>Total</i>	16,74	31,40	31,72	109,30	

Continuação da Tabela 10

Poliinsaturado					
18:2n-6	37,73 ^c ±0,58	53,28 ^{b,c} ±12,45	69,93 ^b ±0,12	234,64 ^a ±6,52	2,89.10 ⁻⁵
18:3n-6	0,69 ^c ±0,01	0,89 ^c ±0,21	1,43 ^b ±0,01	4,02 ^a ±0,09	2,34.10 ⁻⁵
20:4n-6 (ARA)	3,36 ^a ±0,06	8,95 ^b ±0,81	8,38 ^b ±0,16	30,25 ^a ±1,40	1,77.10 ⁻⁵
20:2n-6 (DHA)	0,71 ^a ±0,00	1,58 ^c ±0,01	1,33 ^b ±0,01	4,89 ^a ±0,09	3,47.10 ⁻⁷
20:3n-6	0,36 ^c ±0,01	0,70 ^b ±0,03	0,68 ^b ±0,01	2,21 ^a ±0,00	2,07.10 ⁻⁷
18:3n-3	0,16 ^b ±0,01	0,31 ^b ±0,08	0,34 ^b ±0,00	1,51 ^a ±0,05	2,12.10 ⁻⁵
20:3n-3	0,42 ^d ±0,00	1,82 ^c ±0,13	1,12 ^b ±0,01	5,31 ^a ±0,02	7,86.10 ⁻⁷
22:6n-3	0,16 ^c ±0,01	0,61 ^b ±0,01	0,54 ^b ±0,02	1,64 ^a ±0,04	1,16.10 ⁻⁶
<i>Total</i>	43,59	68,13	83,75	284,48	
<i>Total n-3</i>	0,74	2,73	2,01	8,46	
<i>Total n-6</i>	42,85	65,40	81,74	276,02	
n-3/n-6	0,02	0,04	0,02	0,03	

Fonte: Autoria própria. **Legenda:** ARA = ácido araquidônico; DHA = ácido docosahexaenóico. Médias com letras distintas sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística (P< 0,05).

O ácido araquidônico (20:4n-6), linoleico (18:2n-6) e o linolênico (18:3n-3) são considerados ácidos graxos essenciais, pois não podem ser sintetizados pelo organismo humano e, portanto, são adquiridos por meio da dieta. São indispensáveis à saúde porque fazem parte da membrana celular, além de serem necessários para o transporte do colesterol, produção de energia, funcionamento do cérebro dentre outras funções. (MOURA, 1998; SCHACKER, 2004). As amostras que apresentaram maior teor de ácido linoleico (18:2n-6) correspondem aos tratamentos com 120 e 60 mg kg⁻¹ de β-ácidos de lúpulo com valores de 234,64 e 69,93 mg de ácido graxo/g gordura, respectivamente, sendo estes valores menores do que o observado para o tratamento controle com 37,73 mg de ácido graxo/g gordura. O mesmo pode ser descrito para os valores de ácido linolênico (18:3n-3), no qual o tratamento com 120 mg de β-ácidos de lúpulo apresentou o maior valor (1,51 mg ácido graxo g⁻¹ de gordura) dentre todos os tratamentos (0,34 e 0,31 mg ácido graxo g⁻¹ de gordura), e maior do que aquele encontrado para o tratamento controle (0,16 mg ácido graxo g⁻¹ de gordura).

Os resultados dessa pesquisa mostraram também que a razão de ácidos graxos n-3/n-6 não foi afetada significativamente pelas dietas recebidas com diferentes concentrações de beta-ácidos de lúpulo, a concentração encontrada para a amostra referente ao tratamento controle foi de 0,02 mg ácido graxo g⁻¹ de gordura, para os tratamentos de 30, 60 e 120 mg kg⁻¹ de beta-ácidos os valores foram de 0,04, 0,02 e 0,03 mg ácido graxo g⁻¹ de gordura, respectivamente.

2.4.7 Análise dos componentes principais (PCA)

As Figuras 21 e 22 ilustram, respectivamente o gráfico das amostras ou dos escores (“score graph”) e o gráfico das variáveis ou dos pesos (“loading graph”) dos dois primeiros componentes principais, os quais representaram 90,54% da variância total dos dados.

Figura 21 - Gráfico das amostras ou dos escores (“score graph”) dos dois primeiros componentes principais do PCA dos compostos voláteis do headspace das amostras de carne assada de frango.

Fonte: Autoria Própria.

Figura 22 - Gráfico das variáveis ou dos pesos (“loading graph”) mostrando os dois primeiros componente principais dos compostos voláteis para as amostras de carne assada de frango.

Fonte: Autoria Própria.

A análise de componentes principais (PCA) foi capaz de separar as amostras em função da suplementação com beta-ácidos, o que indica que os diferentes níveis de suplementação podem originar diferentes voláteis na carne assada. O tratamento controle negativo (0 mg kg⁻¹ de β-ácidos) foi caracterizado principalmente por aldeídos e ácidos como octanal, decanal, benzaldeído e ácido n-hexanóico, o tratamento com 30 mg kg⁻¹ de β-ácidos foi caracterizado por pirazinas (2, 6 dimetil pirazina e 3 etil, 2, 5 dimetil pirazina), o tratamento com 60 mg kg⁻¹ de β-ácidos foi caracterizado por uma maior quantidade de álcoois, aldeídos e furanos (hexanal, 1-octen-3-ol e pentilfurano), enquanto que o tratamento com 120 mg kg⁻¹ de β-ácidos foi caracterizado pela presença do composto 2- metil pentanal.

3. CONCLUSÃO

Neste trabalho as análises dos compostos voláteis foram conduzidas utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS). Foi realizado um delineamento composto central rotacional para otimização das condições de extração dos voláteis da carne assada através da técnica de micro extração em fase sólida de *headspace* (HS-SPME), que se mostrou adequada para extração dos voláteis da carne de frango e com boa repetibilidade. A fibra que apresentou maior eficiência para extração dos compostos voláteis da carne assada de frango foi a fibra mista CAR/PDMS. As condições ótimas de extração foram 80 °C e 45 min.

Com relação ao perfil dos compostos voláteis, foram identificados cerca de 95 compostos, cujas classes eram compostas majoritariamente por aldeídos, alcanos, pirazinas e alcóois. A dieta diferenciada dos animais que foram suplementados com β-ácidos de lúpulo influenciou no perfil de voláteis e no perfil de lipídeos da carne. A análise de componentes principais (PCA) mostrou que diferentes níveis de suplementação podem originar diferentes voláteis na carne assada.

Com relação ao perfil de ácidos graxos destas carnes, pode-se destacar que os principais efeitos foram observados nas carnes dos animais suplementados com 30 mg kg⁻¹ de β-ácidos, resultados condizentes com trabalhos anteriores do grupo. Este tratamento apresentou uma das maiores quantidades de ácidos graxos insaturados de cadeia longa como o araquidônico (C20:4-n6) e docosaenoico (C22:6-n3), se comparado ao tratamento controle (0 mg kg⁻¹ de β-ácidos). Um maior teor destes ácidos graxos é benéfico para saúde humana pois possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anuário 2018 da Avicultura Industrial, 2018. **Um ano para o setor avícola comemorar**. Disponível em: < <https://www.aviculturaindustrial.com.br/edicao> >. Acesso em: 05 jan. 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). Relatório anual 2017 associação brasileira de proteína animal. Disponível em: < http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf >. Acesso em: 26 out. 2017.

AVICULTURA INDUSTRIAL (Brasil). Cna - Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. **Produção de carne de frango pode crescer 3,34% em 2018, indica Cepea**. 2018. Disponível em: < <http://www.cnabrazil.org.br/noticias/producao-de-carne-de-frango-pode-crescer-334-em-2018-indica-cepea> >. Acesso em: 08 jan. 2018.

AVICULTURA INDUSTRIAL. **Excedente do setor de frangos dependerá do bom desempenho das exportações**. Itu, 2018. Disponível em < <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/com-excedente-setor-de-frangos-dependera-de-bom-desempenho-das-exportacoes/20180110-150531-Y577> >. Acesso em: 09 jan. 2018.

AYMERICH, T.; PICOUE, P. A.; MONFORT, J. M. Decontamination technologies for meat products. **Meat Science**, v. 78, n. 1–2, p. 114–129, 2008.

AYSELI, M. T, SELLI, S.; FILIK, G. Evaluation of volatile compounds in chicken breast meat using simultaneous distillation and extraction with odour activity value. **Journal of Food and Nutrition Research**. v. 53 , mar, p. 137-142, 2014.

BANG, H. O.; DYERBERG, J.; HJØRNE, N. The Composition of Food Consumed by Greenland Eskimos. **Acta Medica Scandinavica**, Alborg, v. 200, n. 1-6, p.69-73, dez. 1976.

BELITZ, H. .; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. Quarta ed. Munique: Springer Berlin Heidelberg, 2009.

BOGUSZ, S.; MELO, A. M. T; ZINI, C. A.; Godoy, H. T. Optimization of the extraction conditions of the volatile compounds from chili peppers by headspace solid phase micro-extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 3345–3350, 2011.

BORTOLUZZI, C.; MENTEN, J. F. M.; ROMANO, G. G.; PEREIRA, R.; NAPT, G. S. Effect of hops β -acids (*Humulus lupulus*) on performance and intestinal health of broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 23, n. 3, p. 437–443, 2014.

BORTOLUZZI, C.; MENTEN J.F.M.; PEREIRAA, R.; FAGUNDES, N.S.; NAPT, G.S.; PEDROSO A.A.; BIGATON A.D.; ANDREOTE F.D. Hops β -acids and zinc bacitracin affect the performance and intestinal microbiota of broilers challenged with *Eimeria* *cervulina* and *Eimeria* *tenella*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 207, p. 181-189, 2015.

BRANDÃO, P. A.; COSTA F.G.P.; BARROS L.R.; DO NASCIMENTO G.A.J. Ácidos graxos e colesterol na alimentação humana. **Agropecuária Técnica**, Pernambuco, v. 26, n. 1, p.5-14, 2005.

BRUNTON, N. P.; CRONIN, D. A.; MONAHAN, F. J. Volatile components associated with freshly cooked and oxidized off-flavours in Turkey breast meat. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, n. 5, p. 327–334, 2002.

BRUNTON, N. P.; CRONIN, D. A.; MONAHAN, F. J.; DURCAN, R. A comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibres for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey. **Food Chemistry**, v. 68, n. 3, p. 339–345, 2000.

BURDOCK, A. G. **Fenaroli's handbook of flavor ingredients**. 6. ed. Nova York: Taylor & Francis Group, 2010. p. 2162.

CÁRDENAS, D. F.L. **Competitividade e coordenação na avicultura de corte: análise de empresas (São Paulo - Brasil e Lima- Peru)**. 2007. 151 p. Dissertação (Zootecnia)- Unesp, Jaboticabal, 2007.

CNA. **OFERTA E EXPORTAÇÃO EM CRESCIMENTO E QUEDA DOS CUSTOS DE PRODUÇÃO**. 2016. Disponível em: <http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/15_avicultura.pdf>. Acesso em: 07 jan. 2018.

CORNELISON, J.M. et al. Evaluation of hops (*Humulus lupus*) as an antimicrobial agent in broiler diets. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 2, p. 134–136, 2006.

CORTINAS, L.; VILLA VERDE, C.; GALOBART, J.; BAUCCELLS, M. D.; CODONY, R.; BARROETA, A. C. Fatty acid content in chicken thigh and breast as affected by dietary polyunsaturation level. **Poultry science**, v. 83, n. 7, p. 1155–1164, 2004.

CULTIVO DE LÚPULO - Soluções integradas para agricultura. Disponível em: < <https://www.facebook.com/solucoesintegradasparaagricultura>> acesso em 04 dez. 2017.

DONALD S., M. Flavour formation in meat and meat products: a review. **Food Chemistry**, v. 62, n. 4, p. 415–424, 1998.

EDMONSON, J. E.; GRAHAM, D. M. Animal protein-substitutes and extenders. **Journal Animal Science**, Missouri, v. 41, n. 2, p.698-702, ago. 1975.

EINEN, S. Quality characteristics in raw and smoked fillets of Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed high-energy diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 99–108, 1998.

ENGELS, G.; JUAN, J. Hops *Humulus lupulus* L. **The Journal of the American Botanical Council**, n.71 p.1-5, 2006.

European Food Safety Authority (EFSA). **EFSA Journal**. União Européia, 2017. Disponível em: < <https://www.efsa.europa.eu/>>. Acesso em: 09 jan 2018.

FARMER, L. . Poltry meat flavour. In: Poltry Meat Science. Abingdon: Carfax Publishing Company, 1999. p. 127–150.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Fennema's Food Chemistry**. 4. ed. Nova Iorque: Taylor e Francis Group, 2010. 1158 p.

FERREIRA, S.L.C.; EDWARD R.R.; DA SILVA E.G.P.; DOS SANTOS W.N.L.; QUINTELLAA C.M.; DAVIDA J.M.; ANDRADE J.B.; BREITKREITZB M.C.; SALES I.C.F.; BARROS B.N. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. **Journal Of Chromatography A**, Bahia, v. 1158, n. 1-2, p.2-14, jul. 2007.

Flavor and Extract Manufacturers Association of the United States (FEMA). **Flavor Library**. EUA, 2017. Disponível em: < <https://www.femaflavor.org/>>. Acesso em: 09 jan 2017 apud BURDOCK, A. G. **Fenaroli's handbook of flavor ingredients**. 6. ed. Nova York: Taylor & Francis Group, 2010. p. 2162.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biological Chemistry**. v. 226, p. 497-509, 1957.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **World Food Outlook 2017**. Brasil, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 15 jan. 2018.

FRANKEL, E. N. **Lipid oxidation**. Amsterdã: Elsevier, 2005. 488 p.

FRANKEL, E. N. **Volatile lipid oxidation products** *Progress in Lipid Research*, v. 22, n. 1, p. 1-33, 1983.

GRUESO, I.; DE BLAS, J.C.; CACHALDORA, P.; MENDEZ, J.; LOSADA, B.; GARCÍA-REBOLLAR, P. Combined effects of supplementation of diets with hops and of a substitution of starch soluble fiber on feed efficiency and prevention of digestive disorders in rabbits. **Animal Feed Science and Technology**, v.180, p. 92-100, 2013

GUTIÉRREZ, M.L.A. **O USDA prevê números positivos para a produção brasileira de frangos, tanto no mercado interno, como externo em 2018**. Disponível em: <<https://avicultura.info/pt-br/usda-producao-brasileira-de-frango-2018/>>. Acesso em: 02 set. 2017.

HOP GROWERS OF AMERICA. **2016 Statistical report**. Yakima, 2017. Disponível em: <https://www.usahops.org/img/blog_pdf/76.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2017.

INTERNATIONAL HOP GROWERS' CONVENTION ECONOMIC COMMISSION. **Summary reports**. Washington, d.c, 2007. Disponível em: <https://www.usahops.org/img/blog_pdf/85.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2017.

JAYASENA, D. D.; AHN, D. U.; NAM, K. C.; JO, C. Factors affecting cooked chicken meat flavour : a review. **Annals of Animal Science**, v. 14, n. 2, p. 265–268, 2013.

JENKINS, M. Y; MITCHELL, G. V. Nutritional assessment of twelve protein foods/ingredients. **Nutrition Research**, Washington, v. 9, n. 1, p.83-92, jan. 1989.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G.; Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 75, n. 3, p.488-506, 1992.

JOSEPHSON, D. B.; LINDSAY, Robert C.. Retro-Aldol Related Degradations of 2,4-Decadienal in the Development of Staling Flavors In Fried Foods. **Journal of Food Science**, Ohio, v. 52, n. 5, p.1186-1190, set. 1987.

JUNG, Y.; JEON, H.J.; JUNG, S.; CHOE, J.H.; LEE, J.H.; HEO, K.N.; KANG, B.S.; JO, C. Comparison of quality traits of thigh meat from Korean native chickens and broilers. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, 2011, 31,684-692.

KARABIN, M.; HUDCOV'AL, T.; JEL'INEK,L.; DOST'ALEK,P. Biologically Active Compounds from Hops and Prospects for Their Use. **Comprehensive reviews in food Science and food safety**, Praga, v. 15, p.542-567, nov. 2016.

KATO, S.; KURATA, T.; ISHIGURO, S.; FUJIMAKI, M. Additional Volatile Compounds Produced by Pyrolysis of Sulfurcontaining Amino Acids. **Agricultural and Biological Chemistry**, v.37, n.7, p.1759-1761, 1973 apud NOLLET, L. M. L. **Handbook of meat, poultry and seafood quality**. Nova Jersey: Blackwell Publishing, p.705.2010

KOETTER, U.; BIENDL, M. Hops (*Humulus lupulus*): A Review of its Historic and Medicinal Uses. **The Journal of the American Botanical Council**, n. 87, p. 44-57, 2010.

KONIECZKA, P.; ROZBICKA-WIECZOREK, A. J.; CZAUDERNA, M.; SMULIKOWSKA, S. Beneficial effects of enrichment of chicken meat with n-3 polyunsaturated fatty acids, Vitamin E and selenium on health parameters: A study on male rats. **Animal: an international journal of animal bioscience**, v. 11, n. 8, p. 1412–1420, 2017.

KRAUSS, R. M.; ECKEL R.H.; HOWARD B.; APPEL L.J.; DANIELS S.R.; DECKELBAUM R.J.; ERDMAN J.W. JR.; KRIS-ETHERTON P.; GOLDBERG I.J.; KOTCHEN T.A.; LICHTENSTEIN A.H.; MITCH W.E.; MULLIS R.; ROBINSON K.; WYLIE-ROSETT J.; ST JEOR S.; SUTTIE J.; TRIBBLE D.L.; BAZZARRE T.L. Revision 2000: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. **AHA Scientific Statement**, Dallas, v. 11, n. 1, p.2751-2766, 1 nov. 2000.

KRAUSS, R. M.; ECKEL, R. H.; HOWARD, B.; APPEL, L. J.; DANIELS, S. R.; DECKELBAUM, R. J.; ERDMAN, J. W.; KRIS-ETHERTON, P.; GOLDBERG, I. J.; KOTCHEN, T. A.; LICHTENSTEIN, A. H.; MITCH, W. E.; MULLIS, R.; ROBINSON, K.; WYLIE-ROSETT, J.; ST. JEOR, S.; SUTTIE, J.; TRIBBLE, D. L.; BAZZARRE, T. L. A Statement for Healthcare Professionals From the Nutrition Committee of the American Heart Association. **Stroke**, v. 31, n. 11, p. 2751–2766, 2000.

LEGARRETA, I. G. **Handbook of Poultry Science and Technology**. Nova Jersey: John wiley & sons, v. 1, 2010. 788 p.

LIU, X. DE.; JAYASENA. D.D.; YEONKUK J.; SAMOOEL J.; KANG B.S.; HEO K.N.; LEE J.H.; J.O.C. Differential proteome analysis of breast and thigh muscles between Korean native chickens and commercial broilers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 6, p. 895–902, 2012.

MA, Q. L.; HAMID, N.; BEKHIT, A. E.D.; ROBERTSON, J.; LAW, T. F. Optimization of headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) analysis of aroma compounds in cooked beef using response surface methodology. **Microchemical Journal**, v. 111, p. 16–24, 2013.

MACHIELS, D.; ISTASSE, L. Evaluation of two commercial solid-phase microextraction fibres for the analysis of target aroma compounds in cooked beef meat. **Talanta**, v. 61, n. 4, p. 529–537, 2003.

MADIGAN, Michael T. et al. **Brock: Biology of Microorganisms**. 14. ed. Londres: Pearson, 1994. 1032 p.

MADRUGA, M. S.; ELMORE, J. S.; DODSON, A.T.; MOTTRAM, D. S. Volatile flavor profile of goat meat extracted by three widely used techniques. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 1081-1087, 2009.

MARANGONI, F.; CORSELLO G.; CRICELLI C.; FERRARA N.; GHISELLI A.; LUCCHIN L.; POLI A. Role of poultry meat in a balanced diet aimed at maintaining health and wellbeing: an Italian consensus document. **Food & Nutrition Research**, Milão, v. 59, n. 1, p.27606-27617, jan. 2015. Informa UK Limited.

MOTTRAM, D. S. Flavour formation in meat and meat products: a review. **Food Chemistry**, v. 62, p. 415–424, 1998.

MOURA, J. G. P. **A revolução dos nutrientes**. Rio grande do sul: Livraria Mundial, 1998, p. 175-182.

MÜLLER, R.; RAPPERT, S. Pyrazines: Occurrence, formation and biodegradation. **Applied Microbiology And Biotechnology**, Hamburgo, v. 85, n. 5, p.1315-1320, 2 dez. 2009.

no ar utilizando a técnica de micro extração em fase sólida. **Química Nova**, v. 28, n.

NOLLET, L. M. L. **Handbook of meat, poultry and seafood quality**. Nova Jersey: Blackwell Publishing, 2010. 705 p.

NONGONIERMA, A.; CAYOT, P.; LE QUÉRE, J.L.; SPRINGETT, M.; VOILLEY, A. **Mechanisms of extraction of aroma compounds from foods, using adsorbents, effect of various parameters** *Food Reviews International*, v. 22, n. 1, p.51-94, 2006.

NOVELLO, D.; OST, P. R.; DA FONSECA, R. A.; NEUMANN, M.; FRANCO, S. G.; QUINTILIANO, D. A. Avaliação bromatológica e perfil de ácidos graxos da carne de frangos de corte alimentados com rações contendo farinha de peixe ou aveia-branca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 9, p. 1660–1668, 2008.

NURSTEN, H. **The Maillard Reaction: Chemistry, Biochemistry and Implications**. Cambrige: The Royal Society Of Chemistry, 2005. 226 p.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Editora Manole Ltda, 2006. 612 p.

PARREIRA, F. V.; CARDEAL, Z. L. Amostragem de compostos orgânicos voláteis 4, p. 646-654, 2005.

PEREIRA FILHO, E. R. **Planejamento Fatorial em Química Maximizando a Obtenção de Resultados**. São Carlos: Edufscar – Editora da Universidade Federal de São Carlos, 2015.

PINO, L. M. THE USE OF NATURAL ANTIOXIDANTS (OREGANO AND SAGE) TO REDUCE HEXANAL PRODUCTION IN PRECOOKED CHICKEN DURING CHILL STORAGE. **Vitae, Revista de La Facultad de Química Farmacéutica**, Medellín, v. 20, n. 2, p.105-110, out. 2013.

POTENÇA, A.; MURAKAMI, A. E.; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J. V.; MARTINS, E. N.; FURLAN, A. C. Perfil lipídico e maciez da carne de coxa e sobrecoxa de frangos de corte alimentados com rações contendo diferentes fontes lipídicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1774–1783, 2010.

purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p. 497-509, 1957.

ROÇA, R. D. O. Composição química da carne. Botucatu: UNESP, 2012. Disponível em:

<<http://www.fca.unesp.br/Home/Instituicao/Departamentos/Gestaoetecnologia/Teses/Roca102.pdf>>. Acesso em: 23 nov. 2017.

ROSSATO, V. L. **Composição lipídica de carne bovina de rebanhos comerciais em diferentes sistemas de terminação e grupos genéticos**. Lavras:UFL,2007. Disponível em:

<http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/3135/2/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Composi%C3%A7%C3%A3o%20lip%C3%ADica%20de%20carne%20bovina%20de%20rebanhos%20comerciais%20em%20diferentes%20sistemas%20de%20termina%C3%A7%C3%A3o%20e%20grupos%20gen%C3%A9ticos.pdf>. Acesso em:19 dez. 2017.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F. D.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. D. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011. p. 252.

SANTINI, A. G. **Dinâmica tecnológica da cadeia de frango de corte no Brasil: análise dos segmentos de insumos e processamento**. Doutor. Universidade Federal de São Carlos. 2006.

SCHACKER, R. L. **Identificação e determinação do teor dos ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) em óleo de peixe por cromatografia gasosa**. 2004. 38 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

SCHREINER, M.; HULAN, H. W.; RAZZAZI-FAZELI, E.; BOHM, J.; MOREIRA, R. G. Effect of different sources of dietary omega-3 fatty acids on general performance and fatty acid profiles of thigh, breast, liver and portal blood of broilers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 2, p. 219–226, 2005.

SEBRAE. **Previsão para produção de carnes bovinas é de crescimento**. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/portalsebrae/artigos/previsao-para-producao-de-carne-bovinas-e-de-crescimento,0718fa2da4c72410vgnvcm100000b272010arcrd>>. Acesso em: 12 jan. 2018.

SHAHIDI, F. Flavor of cooked meat. In: R. Teranishi, R.G. Buttery & F. Shahidi, (Ed.), Flavor chemistry trends and developments, **American Chemical Society**, p. 188–201, 1989.

SHAHIDI, F. **Flavor of Meat and Meat Products**. Berlim: Springer, 1994. 301.

SHI ,H; HO. C-T. The flavour of poultry meat. In: SHAHIDI, F. **Flavor of Meat and Meat Products**. [s.l: s.n.], 1994.

SHIBAO, J.; BASTOS, D. H. M. Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicações para a saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 6, p.895-904, dez. 2011.

SIRIWARDHANA, N; S.KALUPAHANA, N; NAIMAMOUSTAID-MOUSSA. Health Benefits of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids:: Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid. In: TOLDRA, Fidel. **Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid**. Orlando: C.o. Chichester And B.s. Schweigert, 2012. Cap. 13. p. 211-222.

SIRRI, F.; TALLARICO, N.; MELUZZI, A.; FRANCHINI, A. Fatty Acid Composition and Productive Traits of Broiler Fed Diets Containing Conjugated Linoleic Acid. **Poultry Science**, v. 82, p. 1356–1361, 2003.

SITZ, B. M.; CALKINS, C.R.; FEUZ, D.M.; UMBERGER W.J.; ESKRIDGE, K.M. Consumer sensory acceptance and value of domestic, Canadian, and Australian grass-fed beef steaks. **Journal Of Animal Science**, Oxford, v. 83, n. 12, p.2863-2868, dez. 2005. Oxford University Press (OUP).

SPANIER, A. M.; FLORESA.M.; MCMILLINB K.W.M.; BIDNERB T.D. The effect of post-mortem aging on meat flavor quality in Brangus beef. Correlation of treatments, sensory, instrumental and chemical descriptors. **Food Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 531–538, 1997.

TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 4ed. revisada e ampliada. Campinas, SP: UNICAMP, 2011. Disponível em http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4-versao_ampliada_e_revisada.pdf. Acesso em 01 nov. 2017.

TALAMINI, D.J. DUARTE.; SANTOS FILHO, J.I. DOS. **Panorama da Avicultura em 2017**. 2017. Disponível em: <<https://www.aviculturaindustrial.com.br/edicao>>. Acesso em: 05 jan. 2018.

THEODORIDIS, G.; KOSTER, E. H. M.; JONG, G. J. Solid-phase microextraction for the analysis of biological samples. **Journal of Chromatography**, v. B, n. 745, p. 49- 82, 2000.

UEKANE, T. M.; ROCHA-LEÃO, M. H. M.; REZENDE, C. M. Sulfur Aroma Compounds in Coffee: Origin and Degradation. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 5, p. 891–911, 2013.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE (Estados Unidos). **National Nutrient Database for Standard Reference**. 2006. Disponível em: <<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>>. Acesso em: 05 jan. 2018.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. As espessuras dos recobrimentos, L. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 523–530, 2000.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 2, p. 230-233, 2006.

YANG, Z. XIE, J.; ZHANG, L.; DU, R.; CAO, C.; WANG, M.; ACREE, T.; SUN, S. Aromatic effect of fat and oxidized fat on a meat-like model reaction system of cysteine and glucose. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 30, n. 4, p. 320–329, 2015.

YAYLAYAN, V. A. Recent Advances in the Chemistry of Strecker Degradation and Amadori Rearrangement: Implications to Aroma and Color Formation. **Food Science and Technology Research**, v. 9, n. 1, p. 1–6, 2003.

ZAWADZKI, A. et al. Effect of hop β -acids as dietary supplement for broiler chickens on meat composition and redox stability. **Food Research International**, São Carlos, v. 105, p. 210-220, mar. 2018

ZDUŃCZYK, Z.; GRUZAUSKAS, R.; SEMASKAITE, A.; JUSKIEWICZ, A.; RACEVICIUTE-STUPELIENE, A.; M. WROBLEWSKA. Fatty acid profile of breast muscle of broiler chickens fed diets with different levels of selenium and vitamin E. **European Poultry Science**, Stuttgart, v. 75, n. 2, p. 264-267, jan. 2010.