



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

REBEKA CORREIA DE SOUZA CUNHA

OBTENÇÃO DE HIDROLISADOS PROTEICOS COM POTENCIAL
FLAVORIZANTE A PARTIR DE OSSO DE FRANGO CAPIRA

JOÃO PESSOA – PB

2020

REBEKA CORREIA DE SOUZA CUNHA

**OBTENÇÃO DE HIDROLISADOS PROTEICOS COM POTENCIAL
FLAVORIZANTE A PARTIR DE OSSO DE FRANGO CAPIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Taliana Kênia Alencar Bezerra

Coorientadora: Profa. Dra. Marta Suely Madruga

JOÃO PESSOA – PB

2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C972o Cunha, Rebeka Correia de Souza.

Obtenção de hidrolisados proteicos com potencial
flavorizante a partir de osso de frango caipira /
Rebeka Correia de Souza Cunha. - João Pessoa, 2020.
80 f. : il.

Orientação: Taliana Kênia Alencar Bezerra.

Coorientação: Marta Suely Madruga.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Reação de Maillard.
3. Subprodutos de frango. 4. Compostos voláteis. 5.
Hidrolisado proteico. 6. Ossos de frango. I. Bezerra,
Taliana Kênia Alencar. II. Madruga, Marta Suely. III.
Título.

UFPB/BC

CDU 664(043)

REBEKA CORREIA DE SOUZA CUNHA

**OBTENÇÃO DE HIDROLISADOS PROTEICOS COM POTENCIAL
FLAVORIZANTE A PARTIR DE OSSO DE FRANGO CAIPIRA**

Dissertação _____ APROVADA _____ em 03/03/2022.

BANCA EXAMINADORA

Taliana Kênia Alencar Bezerra

**Profa. Dra. Taliana Kênia Alencar Bezerra – PPGCTA/CT/UFPB
Presidente da Banca Examinadora (Orientadora)**

Marta Suely Madruga

**Profa. Dra. Marta Suely Madruga – DEA/CT/UFPB
Coorientadora**

Lorena Lucena de Medeiros

**Dra. Lorena Lucena de Medeiros – PPGCTA/CT/UFPB
Examinador Externo**

Maria Teresa Bertoldo Pacheco

**Profa. Dra. Maria Teresa Bertoldo Pacheco – LQ/CCQA/ITAL
Examinador Externo**

À minha mãe, dona do coração mais lindo
Que já pude conhecer,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos e todos os professores que o compõem, em especial a professora Dra. Marta Suely Madruga, pela oportunidade cedida.

A professora Dra. Taliana Kênia Alencar Bezerra, por toda paciência e conhecimento compartilhado. Obrigada por me apresentar esse universo e por acreditar.

A professora Dra. Maria Teresa Bertoldo Pacheco, pela parceria nessa pesquisa e pelas sugestões e correções. Sua delicadeza é admirável.

Aos meus pais, Gerson e Érica, por todos os privilégios dos quais gozei.

A minha irmã, Rafaela, e ao meu cunhado, Matheus, por todo suporte e torcida. Vocês são meus anjos.

Ao meu namorado, Andreey Teles, por toda presença, pelo amor e por tentar ser cada vez melhor. Obrigada por ser meu riso. Você é especial.

A minha amiga lua, Luisa Martins, uma das coisas mais bonitas que meu coração soube guardar por tanto tempo. Obrigada por sempre se doar tanto.

As que me guiaram durante todo esse tempo no laboratório, Leila, Mércia, Lorena, Ana Rita e Lary. Serei sempre grata. Muita admiração por vocês.

A meu presente inesperado, Vivi. Obrigada por ter feito tanto. Você foi sensacional e será uma mestranda brilhante.

A Dayane Farias e Natália Dantas por estarem comigo em todo em todos os desafios e momentos de insegurança. Obrigada, meninas.

A Thaianaly, Thayse, Simone, Deyse, Miriane e Flávia. Obrigada por tantas risadas no laboratório e pela prontidão.

E aos demais colegas do PPGCTA.

A história está repleta de pessoas que, como resultado do medo, ou por ignorância, ou por cobiça de poder, destruíram conhecimentos de imensurável valor que, em verdade, pertenciam a todos nós. Nós não devemos deixar isso acontecer de novo.

Carl Sagan

RESUMO

Um dos principais subprodutos do abate do frango, o resíduo ósseo, constitui uma excelente fonte de proteínas e por esse motivo apresenta potencial para uso como hidrolisado proteico, obtido por hidrólise enzimática. Esta técnica tem possibilitado o aproveitamento de subprodutos cárneos, com ampla aplicação tecnológica, entre as quais cita-se a obtenção de flavorizantes. O objetivo desta pesquisa consistiu em elaborar flavorizante a partir de hidrolisados proteicos de ossos de frango caipira com potencial de utilização pela indústria de alimentos. Foram realizados estudos da composição química parcial dos ossos de frango caipira, seguido de hidrólise enzimática utilizando as enzimas Alcalase, Flavourzyme e uma mistura das duas enzimas (1:1). Os hidrolisados proteicos foram caracterizados em relação ao teor de aminoácidos livres e totais, perfil de açúcares e perfil volátil. Os ossos de frango caipira apresentaram altos percentuais de proteínas e lipídios, 26,27g/100g e 12,21g/100g respectivamente; além de serem ricos em cálcio (11,56g/100g) e fósforo (4,55g/100g). A enzima alcalase apresentou maior grau de hidrólise (20,59%), em comparação com a flavourzyme (4,60%) e a mistura de enzimas (14,90%). O perfil de aminoácidos livres liberados pelas enzimas favoreceu a obtenção do hidrolisado proteico da mistura de enzimas flavourzyme e alcalase (HFA); no entanto, o hidrolisado obtido a partir da flavourzyme (HF) proporcionou componentes voláteis em maior quantidade e qualidade superior para o aroma cárneo. O perfil de açúcares sinalizou a presença de maltose, glicose, frutose e ribose, com maior concentração de açúcares no resíduo seco de ossos de frango caipira, indicando que houve o consumo desses açúcares durante a hidrólise enzimática. O hidrolisado selecionado, o HF, foi adicionado de glicose (FG) ou de xilose (FX) para obtenção de dois flavorizantes que foram avaliados nos parâmetros de L*, a*, b*, perfil aromático e qualidade sensorial. O flavorizante FX demonstrou maior escurecimento pós reação de Maillard e oito componentes de aroma a mais que o flavorizante FG; no entanto, o painel sensorial não identificou diferenças significativas entre os dois flavorizantes. Logo, conclui-se que o flavorizante adicionado de xilose (FX) apresenta potencial de utilização como base para o desenvolvimento de aromas cárneos, possibilitando avanços em questões ambientais e melhorias nos custos para o setor produtivo de frango caipira.

PALAVRAS-CHAVE: Reação de Maillard, subprodutos de frango, compostos voláteis, hidrolisado proteico, ossos de frango.

ABSTRACT

One of the most important by-products of chicken slaughter, bone residues, are an excellent source of protein and can therefore be used as protein hydrolysate obtained by enzymatic hydrolysis. This technique has allowed the use of meat by-products with a wide technological application, including the production of flavorings. The aim of this research was to develop a flavoring agent from protein hydrolysates of free-range chicken bones that can be used in the food industry. The partial chemical composition of free-range chicken bones was studied, followed by enzymatic hydrolysis with the enzymes Alcalase, Flavourzyme and a mixture of the two enzymes (1:1). The protein hydrolysates were analyzed for free and total amino acid content, sugar profile and volatile profile. The free-range chicken bones had a high content of proteins and lipids, 26.27g/100g and 12.21g/100g, respectively; they were also rich in calcium (11,56g/100g) and phosphorus (4,55g/100g). The alcalase enzyme had a higher degree of hydrolysis (20.59%), compared to flavourzyme (4.60%) and the enzyme mixture (14.90%). The profile of free amino acids released by the enzymes favored the HFA - hydrolysate of Flavourzyme and the alcalase enzyme mixture, but the HF - hydrolysate of Flavourzyme provided volatile components in greater quantity and quality for meat flavor. The sugar profile indicated the presence of maltose, glucose, fructose, and ribose, with higher sugar concentrations in the dry residues of free-range chicken bones, suggesting that these sugars were consumed by the enzymatic hydrolysis. Glucose (FG) or xylose (FX) was added to the selected hydrolysate, HF, to obtain two flavorings that were tested for instrumental color, flavor profile, and sensory characterization. FX exhibited more browning after the Maillard reaction and eight more aroma components than FG. However, the sensory panel did not identify significant between the two flavorings. In summary, FX can be used as a basis for the development of meat flavors that will enable advances in environmental issues and cost improvements for free-range chicken production.

KEY-WORDS: Maillard reaction, chicken by-products, volatile compounds, protein hydrolyzate, chicken bone.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Delineamento experimental da pesquisa.....	21
----------	--	----

ARTIGO 1

Figura 1	Curva de hidrólise dos ossos de frango caipira.....	47
Figura 2	Mapa de calor dos componentes voláteis dos hidrolisados proteicos.....	61
Figura 3	Avaliação sensorial dos flavorizantes de ossos de frango caipira.....	70

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1	Conteúdo de minerais dos ossos de frango caipira.....	46
Tabela 2	Perfil de aminoácidos totais e livres de ossos de frango caipira e hidrolisados proteicos.....	49
Tabela 3	Perfil de açúcares de ossos de frango caipira e hidrolisados proteicos....	51
Tabela 4	Descrição e conteúdo dos compostos voláteis do resíduo seco do osso e hidrolisados proteicos.....	55
Tabela 5	Valores de luminosidade (L*) instrumental dos hidrolisados.....	62
Tabela 6	Descrição e conteúdo dos compostos voláteis dos flavorizantes.....	65

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1	O FRANGO CAIPIRA NO BRASIL	15
2.2	SUBPRODUTOS DO ABATE DO FRANGO	16
2.3	HIDROLISADOS PROTEICOS	16
2.4	REAÇÃO DE MAILLARD, DEGRADAÇÃO LIPÍDICA E COMPOSTOS VOLÁTEIS	17
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	MATERIAL.....	20
3.2	DESENHO EXPERIMENTAL	20
3.2.1	Elaboração dos hidrolisados de ossos de frango caipira.....	21
3.2.2	Elaboração do flavorizante.....	22
3.3	MÉTODOS.....	22
3.3.1	Caracterização química dos ossos após pré-tratamento.....	22
3.3.2	Quantificação de minerais dos ossos após pré-tratamento.....	22
3.3.3	Caracterização dos hidrolisados proteicos de ossos de frango caipira	23
3.3.3.1	<i>Perfil de aminoácidos totais e livres</i>	23
3.3.3.2	<i>Perfil de açúcares</i>	24
3.3.4	Avaliação dos flavorizantes	24
3.3.4.1	<i>Cor instrumental</i>	24
3.3.4.2	<i>Perfil volátil</i>	25
3.3.4.3	<i>Análise sensorial</i>	26
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
	REFERÊNCIAS.....	71
5	CONCLUSÕES.....	75
	APÊNDICE	76

1 INTRODUÇÃO

A avicultura é um segmento que tem apresentado crescimento no país e a criação de aves do tipo caipira vem ganhando destaque nos últimos anos. Esse tipo de produção é caracterizado pela ave criada à solta, visando o bem-estar animal e a qualidade do produto final (carnes e ovos) com características diferenciadas (SANTOS; RIBEIRO; CARVALHO, 2009; LEMOS et al. 2018).

Criados extensivamente e sem o uso de quimioterápicos, o frango caipira se exercita em busca de alimentos, ingerindo pasto e insetos. Esses aspectos são determinantes para uma carne de textura, coloração e sabor marcante. Em soma aos atributos sensoriais supracitados, esse tipo de criação atrai o nicho de consumidores que são atentos à segurança alimentar e à nutrição mais próxima do natural. Atualmente, essa vertente de consumidores vem crescendo e ganhando destaque na população e no mercado industrial (CARRIJO et al. 2010; ZIDANE et al. 2018).

Nesse contexto, o mercado consciente também demonstra preocupação com as questões ambientais e incentiva a utilização de subprodutos do abate para redução no impacto da poluição ao ecossistema, representando ainda, melhorias nos custos para o setor. Os subprodutos derivados do abate de frangos de corte podem representar até 37% do peso vivo total do animal, sendo estes, compostos por ossos, cabeça, pele, penas, crista, barbela, aparas de carne, sangue, tecidos adiposos, pé e órgãos internos (BEZERRA et al. 2020; MORA; REIG; TOLDRÁ, 2014).

O resíduo ósseo é um subproduto rico em nutrientes, com extensa quantidade de proteínas. O desperdício dessa fonte proteica estimula o desenvolvimento de novos métodos de processamento que sejam capazes de converter esse subproduto em produtos mais rentáveis e de potencial econômico (SUN et al. 2014).

Nesse sentido, a hidrólise enzimática tem se mostrado eficaz na extração e quebra de proteínas e peptídeos, configurando um meio para a recuperação de proteínas de subprodutos ou liberação de peptídeos de baixo peso e aminoácidos (DONG et al. 2019). Os hidrolisados proteicos têm recebido atenção por apresentar forte aplicação tecnológica para uso em subprodutos cárneos como os flavorizantes, intensificadores de sabor, emulsificantes, potencializadores na capacidade de ligação à água ou ainda como nutrientes a serem adicionados aos alimentos (CHIANG et al. 2019; QUEIROZ et al. 2017; DONG et al. 2014; MORA; REIG; TOLDRÁ, 2014; ZHAN et al. 2013).

A ação flavorizante dos hidrolisados proteicos pode ser conferida pelos peptídeos de baixo peso e/ou aminoácidos livres presentes, que conferem aroma desejável ou podem atuar como precursores para a obtenção de um flavorizante elaborado posteriormente. Estudos realizados com ossos bovinos e ovinos demonstram a promissora utilização desses ossos para obtenção de flavorizante similar ao da carne (CHIANG et al. 2019; ZHAN et al. 2013).

Os aromas cárneos desejados pela indústria de alimentos ocorrem principalmente na formação de compostos aromáticos durante a reação de Maillard (RM), degradação oxidativa e térmica de lipídeos e combinação de ambas para a formação de aromas e sabores (SIMON; MUMM; HALL, 2019).

Dessa forma, processo de obtenção dos flavorizantes se caracteriza pelo desenvolvimento de compostos resultantes da RM, na qual existe a necessidade da aplicação de um açúcar redutor para que ocorra a interação com aminoácidos presentes no hidrolisado proteico, além da aplicação de calor (SUN et al. 2014) e pela auto-oxidação e vias de degradação lipídica que com a elevação da temperatura ocorre a produção de hidroperóxidos que levam a muitas rotas com formação de metabolitos relacionados ao aroma (SIMON; MUMM; HALL, 2019). Ao final desses processos, estabelecem-se contribuições para atributos sensoriais, tais como o aroma, sabor e cor aos produtos dos quais podem ser adicionados.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo consiste em apresentar alternativa para a utilização de ossos de frango caipira, através da obtenção de hidrolisado proteico e posterior produção de flavorizante com aplicação industrial.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O FRANGO CAIPIRA NO BRASIL

A produção aviária brasileira ocupa destaque no cenário mundial e nessa perspectiva a avicultura alternativa apresenta forte contribuição. A criação de aves nesse sistema, caipira, tem sido desenvolvida por produtores que visam atender a demanda por uma criação mais natural, com produtos de características diferenciadas em relação ao frango de corte industrial (HELLMEISTER FILHO et al., 2003; VITA et al., 2014).

As aves caipiras difundiram-se pelo mundo e foram introduzidas no Brasil ainda na época do descobrimento, surgindo a partir de vários ramos genealógicos, com diferentes fenótipos no que tange à plumagem, porte, hábitos, aptidão e coloração de ovos (CLEMENTINO et al., 2007).

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) emprega-se a designação "Frango Caipira ou Frango Colonial" ou "Frango Tipo ou Estilo Caipira" ou "Tipo ou Estilo Colonial" para identificação de frangos cuja produção englobe condições específicas, como alimentação constituída exclusivamente por produtos de origem vegetal – proibindo o uso de promotores de crescimento; criação intensiva até 25 dias de idade e acesso a piquete após esse período – mínimo três metros quadrados de pasto por ave e idade mínima de abate de 85 dias, com linhagens de aves específicas para este fim (BRASIL, 1999).

Tais particularidades fazem com que o sistema de criação alternativo se diferencie com uma fonte de carne altamente apreciada, quando comparado às linhagens criadas em confinamento comercial. O crescimento lento e o acesso ao pasto, somados às condições normatizadas pelo MAPA, proporcionam uma carne de características sensoriais intrínsecas, de textura firme, escura, com sabor acentuado e carcaça com menor teor de gordura (TAKAHASHI et al., 2006; ZIDANE et al., 2018).

Para atender as finalidades desse mercado, muitas linhagens circulam pelo Brasil. Dentre outras, destacam-se a Pescoço Pelado Label Rouge, originária da França; a Embrapa 041, produzida pelo Centro Nacional de Pesquisa em Suínos e Aves da Embrapa em Concórdia/Santa Catarina; a Paraíso Pedrês, de Itatiba em São Paulo e a linhagem Caipirinha, produzida pela ESALQ/USP, em Piracicaba, São Paulo (TAKAHASHI et al., 2006).

2.2 SUBPRODUTOS DO ABATE DO FRANGO

A geração de subprodutos decorrentes do processo de abate, acompanha o intenso crescimento da produção de carne de frango e a quantidade de resíduo chega a corresponder a 37% do peso vivo do animal, já que apenas a carcaça tem valor comercial. Logo, tendências globais de sustentabilidade enfatizam a necessidade do uso dos resíduos como matéria-prima, de maneira a evitar-se o acúmulo de subprodutos e preocupações ambientais (BEZERRA et al., 2020).

A não utilização ou subutilização de resíduos animais não só leva a perda de renda, como também eleva o custo de descarte desses produtos. Por esse motivo, a indústria passa a desenvolver tecnologias para aproveitamento de resíduos, principalmente na forma de produtos de baixo valor agregado, ao mesmo tempo em que reduz os custos (MARTÍNEZ-ALVAREZ; CHAMORRO; BRENES, 2015).

O que pode vir a ser considerado como subproduto dependerá da demanda estabelecida pelo mercado. Alguns produtos, que não a carcaça, podem ser considerados não comestíveis em um determinado país e, ainda assim, representar produtos cobiçados em outras localidades de diferentes hábitos alimentares (TOLDRÁ et al., 2012).

Diferentes subprodutos do frango são conhecidos por conterem quantidade considerável de biomoléculas como proteínas, enzimas e lipídios. Essas biomoléculas podem ser recuperadas e processadas em produtos úteis na medicina, microbiologia, nutrição humana, fármacos e cosméticos (LASEKAN; ABU BAKAR; HASHIM, 2013).

Entre as variedades de resíduos do frango, o osso é um dos principais subprodutos. Rico em nutrientes, essa matéria-prima representa uma ótima fonte de proteínas candidatas à métodos de transformações utilizados pela indústria, como a hidrólise de proteica, mediada por enzimas para obtenção de peptídeos (BEZERRA et al., 2020; DONG et al., 2019).

2.3 HIDROLISADOS PROTEICOS

A predileção da hidrólise enzimática pela indústria de alimentos, se dá pela possibilidade da ausência de solventes orgânicos residuais e produtos tóxicos. O processo transcorre de acordo com a ação de enzimas proteolíticas, as quais clivam a cadeia de aminoácidos em pontos específicos, gerando peptídeos e aminoácidos livres. De acordo com seu mecanismo de ação, essas enzimas classificam-se em endoproteases, responsáveis pela

clivagem de ligações no interior das moléculas com produção de peptídeos de cadeias relativamente longas, e em exoproteases que removem aminoácidos das regiões N- e C-terminais, hidrolisando ligações peptídicas terminais (BENHABILES et al., 2012; NGO et al., 2012; VIOQUE et al., 2000).

A produção de hidrolisados proteicos de alto valor biológico, que partem de fontes não convencionais de origem animal, se justifica pelo fato desses subprodutos serem excelentes fontes de peptídeos funcionais, aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais. A produção dessas biomoléculas melhora o desempenho de atividades biológicas de acordo com a sequência de aminoácidos, ampliando a gama de aplicações tecnológicas como a intensificação de sabor, obtenção de emulsificantes e flavorizantes (CHIANG et al., 2019; QUEIROZ et al., 2017; MARTÍNEZ-ALVAREZ; CHAMORRO; BRENES, 2015).

Como a hidrólise química leva à produção de uma variedade de compostos, o método baseado nas proteases para geração de peptídeos deve ser realizado controlando fatores críticos para atender especificações técnicas da enzima, de maneira que as condições hidrolíticas alcançadas sejam as melhores. Para tanto, devem ser controlados a temperatura, pH, tempo e relação enzima/substrato, levando em consideração o tipo de substrato a ser degradado e a funcionalidade do hidrolisado a ser obtido (BEZERRA et al., 2020; DONG et al., 2019).

A hidrólise enzimática normalmente é realizada por algumas horas em reatores alimentados em lote ou em reatores contínuos com uso de membrana de ultrafiltração. Ao atingir o grau de hidrólise desejado, o produto é submetido ao fracionamento e purificação parcial por filtração e/ou técnicas cromatográficas (MORA; REIG; TOLDRÁ, 2014).

Essa técnica tem sido utilizada com a finalidade de melhorar a expressão de propriedades funcionais e biológicas das proteínas para agregar inovação a produtos de baixo custo, podendo ainda, possibilitar a redução do potencial alergênico de alimentos e atuar como componentes de sabor (QUEIROZ et al., 2017; KUMAR; NAZEER; GANESH, 2012).

2.4 REAÇÃO DE MAILLARD, DEGRADAÇÃO LIPÍDICA E COMPOSTOS VOLÁTEIS

O sabor é compreendido através da combinação de gosto e odor, e é considerado uma das mais importantes características na qualidade da carne e na decisão de compra do consumidor. Os componentes de odor derivam de uma combinação de compostos ativos que

são concebidos por moléculas orgânica voláteis e por componentes de sabor, que geralmente não são voláteis (KHAN; JO; TARIQ, 2015).

Pesquisas sobre o sabor de frango tiveram início em 1950 com Bouthilet (1949). Os voláteis demonstrados em um conjunto de dados de Feng et. al., (2018) acusaram 621 componentes voláteis derivados da carne de frango e de produtos de frango, constando de aldeídos, cetonas, álcoois, fenóis, ácidos, ésteres, furanos, pirazinas, componentes de enxofre e hidrocarbonetos. Destes, o principal grupo dos voláteis em frango foram os hidrocarbonetos (125), aldeídos (96), compostos contendo enxofre (89), cetonas (60) e álcoois (56).

Os compostos solúveis de baixo peso molecular e gordura são os principais precursores capazes de conferir o sabor de carne cozida, dessa forma, a RM, a oxidação lipídica e a degradação de vitaminas são as principais reações envolvidas no desencadeamento desse tipo de aroma. Destaca-se ainda outros fatores que contribuem para o desenvolvimento do sabor de carne cozida, tais quais a alimentação, idade, sexo e raça do animal, condições de cozimento e envelhecimento (KHAN; JO; TARIQ, 2015).

Geralmente associados às qualidades negativas no sabor dos alimentos, por se associarem ao ranço, os lipídios também possuem atuação positiva como intensificador de sabor. Durante o processamento o aroma pode sofrer influência da auto-oxidação não enzimática e vias de degradação que levam a formação de uma variedade de metabolitos secundários relacionados ao aroma. Os fosfolipídios e os triglicerídeos são formados durante o aquecimento, com liberação de ácidos graxos de cadeia curta e saturação reduzida. Com a elevação da temperatura, ocorre a auto-oxidação destes ácidos e a produção de hidroperóxidos, decompostos em muitas rotas com ampla variedade de produtos secundários voláteis e não voláteis. Essa decomposição é responsável pela formação de um radical alcoxi, que se transforma em aldeídos, cetonas, álcoois e furanos (SIMON; MUMM; HALL, 2019).

Por outro lado, a RM desempenha papel de extrema relevância na formação de cor e sabor de alimentos no processamento térmico. Essa reação geralmente é dividida em três estágios; o estágio inicial tem início com a condensação entre um grupo amino e um açúcar redutor, levando a uma N-glicosilamina, no caso de uma aldose, que posteriormente se reorganiza no produto de Amadori. Produto de Heyns caso o açúcar redutor seja uma cetose; o estágio intermediário se dá com o produto de Amadori/Heyns, levando a fragmentação dos produtos de açúcar e liberação do grupo amino; o estágio final leva a todos os tipos de reações de desidratação, fragmentação, ciclização e polimerização nas quais os grupos aminos participam novamente (HOU et al., 2017; VAN BOEKEL, 2006).

Enquanto a escolha do açúcar é de pouca importância, desempenhando papel mais relevante apenas na taxa de reação, a escolha do aminoácido determina o caráter do sabor. Outro fator que pode ocasionar diferença significativa no sabor, de acordo com a diferença na composição de precursores, é o grau de hidrólise (CHIANG et al., 2019; ZHAN et al., 2013).

De acordo com as enzimas escolhidas, de maneira a controlar o grau de hidrólise, diferentes composições de precursores serão obtidos, gerando mudanças no sabor, devido aos diferentes graus de formação de voláteis em condições de reação térmica, evidenciando ainda mais, a importância da reação térmica nesse processo de obtenção do sabor (ZHAN et al., 2013).

Com o objetivo de determinar a concentração de alguns precursores solúveis em água, presentes no aroma caprino de carne crua e cozida, Madruga et al., (2010) relatou maiores perdas de frutose, glicose, IMP e cisteína durante o processo de cozimento, aparentando ser parte da formação do aroma caprino.

Diante de todo potencial proporcionado pelos hidrolisados proteicos, de acordo com seus graus de hidrólise, estes são sugeridos pela sua aplicabilidade tecnológica para área de alimentos como flavorizantes e ingredientes funcionais (QUEIROZ et al., 2017).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

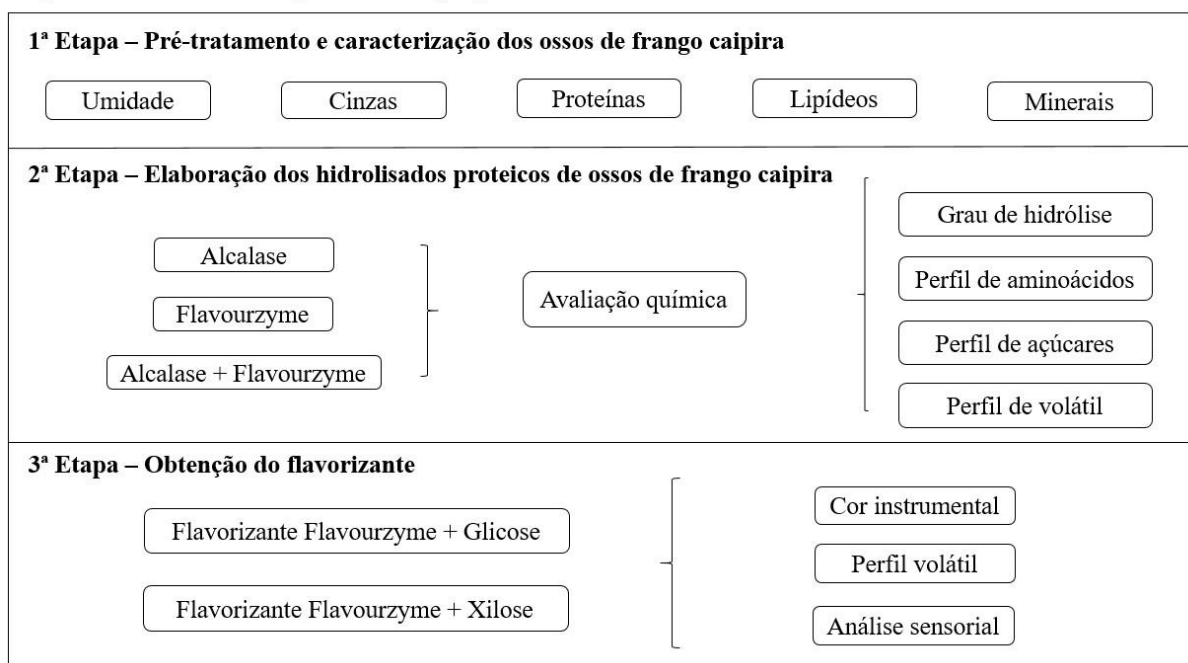
Os frangos caipiras foram adquiridos em comércio local na cidade de João Pessoa (Paraíba, Brasil), constando de SIF – Serviço de Inspeção Federal. Para obtenção dos ossos, a desossa foi iniciada após retirada da cabeça, pele, pés e órgãos internos. Os ossos foram limpos com faca e os resíduos removidos em água destilada. Posteriormente os ossos foram acondicionados, etiquetados e armazenados a -20 °C até o uso, segundo Zhan et al. (2013) com adaptações.

As enzimas proteolíticas utilizadas para obtenção dos hidrolisados proteicos foram a Alcalase® (*Bacillus licheniformis*) e a Flavourzyme®, ambas fornecidas pela Novozymes Latino Americana Ltda (Paraná, Brasil).

3.2 DESENHO EXPERIMENTAL

A pesquisa foi executada em três etapas, de acordo com a Figura 1. Inicialmente, foi realizado um pré-tratamento para obtenção do resíduo seco de ossos (RSO) de frango caipira, seguindo para as análises da composição química parcial (umidade, cinzas, proteínas, lipídeos), composição mineral e aminoácidos totais do RSO de frango caipira. Os ossos de frango caipira foram submetidos a um pré-tratamento de alta pressão, sendo autoclavados a 121 °C por 4 horas. Posteriormente foi realizado o processo de secagem em estufa à 55 °C por 5 horas, com moagem em moinho de facas segundo Zhan et al. (2013), obtendo-se assim um RSO de frango caipira.

A segunda etapa compreendeu os estudos a respeito do grau de hidrólise para definição da relação enzima/substrato e obtenção dos hidrolisados proteicos a partir das enzimas Alcalase, Flavourzyme e da mistura Alcalase:Flavourzyme (1:1). Os hidrolisados obtidos foram caracterizados quanto ao teor de aminoácidos livres e totais, além de serem analisados quanto ao perfil de açúcares e perfil volátil. Em seguida, foram elaborados dois flavorizantes, utilizando o hidrolisado que apresentou maior potencial aromático que foi autoclavado após adição de monossacarídeos, a glicose e a xilose. Os flavorizantes foram analisados em relação aos parâmetros de cor instrumental, perfil aromático e caracterização sensorial do aroma.

Figura 1. Delineamento experimental da pesquisa.

Fonte: Autor

3.2.1 Elaboração dos hidrolisados de ossos de frango caipira

Foram elaborados três hidrolisados proteicos dos ossos de frango caipira: HF – Hidrolisado proteico de ossos de frango caipira utilizando a enzima Flavourzyme; HA – Hidrolisado proteico de ossos de frango caipira utilizando a enzima Alcalase; e HFA – Hidrolisado proteico de ossos de frango caipira utilizando a mistura das enzimas Flavourzyme e Alcalase (1:1).

A hidrólise enzimática dos ossos, após o pré-tratamento, foi realizada com 10g do RSO de frango caipira transferido para um béquer encamisado com banho termostatzado, previamente aquecido. Ao sistema foi adicionado 40 mL de água ultrapura, com agitação constante e verificação contínua do pH. Em seguida a enzima proteolítica (Alcalase ou Flavourzyme ou a mistura das mesmas – 1:1) foi adicionada e os parâmetros de pH e temperatura foram mantidos conforme recomendação dos valores ótimos, fornecidos pelos fabricantes das enzimas utilizadas. Ao elaborar o HFA, a Alcalase foi usada na primeira etapa por 2 horas e posteriormente o pH foi ajustado para o uso da Flavourzyme. As hidrólises foram controladas por 240 min e a inativação enzimática se deu pelo uso de temperatura a 95 °C por 10 min conforme Zhan et al. (2013). Os hidrolisados foram centrifugados a 12.000 G por 10 min.

Após processos enzimáticos, os hidrolisados proteicos foram caracterizados e avaliados quanto ao potencial de formação de compostos aromáticos e/ou precursores para a RM ou de oxidação lipídica. O hidrolisado selecionado foi utilizado para a terceira etapa (descrita no item 3.3.6) para a elaboração do flavorizante. O grau de hidrólise das enzimas proteolíticas nos hidrolisados de ossos de frango caipira foram determinados pelo consumo de base, utilizando a metodologia descrita por Adler-Nissen (1986).

3.2.2 Elaboração do flavorizante

Os produtos da RM foram obtidos por meio da mistura dos hidrolisados de ossos de frango caipira obtidos pelo uso da flavourzyme com glicose ou xilose, na proporção de 1:0,068 (proteína:açúcar p/p), em frasco de vidro com tampa de rosqueável. O flavorizante elaborado com glicose (hexose) e xilose (pentose) foram denominados de FG e FX, respectivamente. As misturas tiveram o pH ajustado para 6,5 com HCl a 0,5 M e foram autoclavadas a 113 °C por 10 min de acordo com Chiang et al. (2019).

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Caracterização química dos ossos após pré-tratamento

Os ossos foram caracterizados pelas determinações dos teores de umidade, cinzas e proteínas conforme a metodologia da AOAC (2010), descrita nos procedimentos nº 39.1.03, 39.1.09 e 39.1.15, respectivamente. Os lipídeos foram realizados utilizando a metodologia de Folch, Lees e Sloane Stanley (1957).

3.3.2 Quantificação de minerais dos ossos após pré-tratamento

Para a quantificação dos minerais utilizou-se um espectrômetro de emissão ótica com plasma com acoplamento indutivo (ICP OES 5100 VDV, Agilent Technologies, Tóquio, Japão) equipado com uma fonte de radiofrequência (RF) de 27 MHz usando a visão radial do detector óptico simultâneo, uma bomba peristáltica, uma câmara de nebulização ciclônica de

duplo passo, uma tocha de quartzo de 1,8 mm e um nebulizador tipo seaspray. Como gás do plasma o sistema utiliza o argônio líquido (Air Liquide, São Paulo, Brasil). As condições otimizadas de operação do ICP OES foram: potência do plasma, 1,20kW; vazão de argônio, 12,0 L min⁻¹; vazão de argônio auxiliar, 1,0 L min⁻¹; vazão de nebulização, 0,7 L min⁻¹; número de replicatas, 3; tempo de estabilização e de leitura, 12 s e comprimentos de onda, Ca (317,933 nm); Cu (324,754 nm); Fe (259,940 nm); K (766,491 nm); Mg (279,553 nm); Mn (257,610 nm); P (213,618nm), Na (589,592 nm) e Zn (206,200 nm). As curvas analíticas para os minerais foram preparadas a partir de diluições de padrões analíticos de 10 mg/100mL e de 1000 mg/100mL (Specsol - Quimlab, Jacareí, Brasil) nas faixas de 0,041 a 41,0 mg/100mL para Ca e Na; 0,061 a 61,0 mg/100mL para K; 0,062 a 62,0 mg/100mL para P; 0,015 a 14,5 mg/100mL para Mg e 0,001 a 1,0 mg/100mL para Cu, Fe, Mn e Zn, com coeficiente de correlação (r) superior a 0,9999.

3.3.3 Caracterização dos hidrolisados proteicos de ossos de frango caipira

3.3.3.1 Perfil de aminoácidos totais e livres

Os aminoácidos totais foram hidrolisados à 110 °C/22h/vácuo, em seguida derivatizados com fenilisotiocianato (PITC) de acordo com as metodologias propostas por White, Hart e Fry (1986). Os aminoácidos livres foram extraídos mediante um processo mais brando que envolveu a agitação orbital por 60 minutos com ácido clorídrico a 0,1 mol/L, seguida de derivação com fenilisotiocianato (PITC), seguindo o método descrito por Hagen, Frost e Augustin (1989).

A separação dos aminoácidos livres e totais derivatizados (feniltiocarbamilaminoácidos / PTC-aa) foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Resolução (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan) em coluna de fase reversa C18 – Luna - Phenomenex (250 mm x 4,6 mm, 5 µm; Phenomenex Inc., Torrence, CA, USA). As fases móveis empregadas consistiram de um tampão acetato de pH 6,4 e uma solução de acetonitrila a 40%. A injeção da amostra foi efetuada automaticamente (50 µL) e a detecção ocorreu a 254 nm. A separação cromatográfica foi realizada a um fluxo constante de 1 mL / minuto, à temperatura de 35 °C. O tempo de corrida cromatográfica foi de 45 minutos e os resultados foram expressos em mg de aminoácido por 100 g de amostra. A quantificação foi

realizada mediante a adição do padrão o interno ácido α -aminobutírico e identificados por comparação a uma mistura de padrões.

3.3.3.2 Perfil de açúcares

O perfil de açúcares foi determinado segundo Zeppa, Conterno e Gerbi (2001). Foram utilizado 2 g da amostra em béquer de 50 mL e o peso foi registrado. Em seguida o material foi transferido para o frasco de mini-turrax, com o auxílio de 10 mL de água ultra pura. Homogeneizado por 10 minutos, logo após transferido para tubo falcon de 15 mL. Posteriormente foi realizada uma centrifugação em temperatura ambiente por 10 minutos seguida de filtragem do sobrenadante em papel de filtro qualitativo e depois em filtro de seringa com poros de 0,45 μ m e 0,22 μ m de diâmetro. O extrato foi utilizado para a determinação do perfil de açúcares. O armazenamento do extrato quando necessário foi em temperatura de congelamento, para aumentar a sua estabilidade.

O teor total de açúcares dos ossos de frango e do hidrolisado proteico foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência marca VARIAN (Waters, Califórnia, USA), utilizando detector de índice de refração (Varian 356 - LC), equipado com sistema isocrático de solvente, válvula "Rheodyne" com alça de 20 μ l; acoplado com uma coluna Hi-plex Ca (300 mm x 7,7 mm), temperatura do forno foi de 85 °C (Hi-plex Ca), fase móvel composta de água ultrapura. A separação cromatográfica foi realizada a um fluxo constante de 0,6 mL/min, injeção de 20 μ L de amostra e tempo de corrida cromatográfica de 30 min (cromatógrafo VARIAN, Waters, Califórnia, USA).

O software de processamento utilizado foi o GALAXIE Chromatography Data System. Os cromatogramas das amostras foram comparados com os padrões dos componentes analisados e a quantificação foi realizada pela área composta em uma curva de calibração de cada composto, em cinco concentrações, dependendo do composto analisado. Os resultados foram expressos em miligrama do composto por 100 gramas de amostra.

3.3.4 Avaliação dos flavorizantes

3.3.4.1 Cor instrumental

A determinação dos parâmetros de cor instrumental (L^* , a^* e b^*) foi realizado utilizando colorímetro digital (Modelo CR300, Minolta, Osaka, Japão). Os parâmetros de luminosidade – preto / branco (L^*), vermelho / verde (a^*) e amarelo / azul (b^*) foram determinados de acordo com as especificações do Commision Internationale de L'éclairage (CIE, 1986).

3.3.4.2 Perfil volátil

A extração de voláteis foi realizada usando a técnica de microextração em fase sólida Headspace (HS-SPME) com dispositivo SPME (Supelco, Bellefonte, EUA), segundo metodologia adaptada de Cordeiro et al. (2020). Uma alíquota de 2 mL de hidrolisado ou 4 g do RSO foi transferida para um frasco de vidro de 20 mL, sendo imediatamente selados com tampa com septo revestido de Teflon. Os voláteis foram extraídos a 50 °C atingindo o equilíbrio por 10 min. Depois disso, a fibra de Divinilbenzeno/Carboxeno/Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) 50/30 μm foi exposta ao headspace por 30 min de adsorção. A fibra utilizada foi condicionada de acordo com as especificações do fabricante antes do procedimento de extração.

As análises cromatográficas foram realizadas utilizando Cromatógrafo Gasoso 7890B (Agilent Technologies 5977B, Little falls, DE, EUA) equipado com coluna VF-5MS (30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,25 μm) e acoplado a Espectrômetro de Massa (nas condições da metodologia de Sun et al. (2014): temperatura inicial do forno de 40 °C por 3 min, que aumentou de 5 °C.min⁻¹ a 120 °C e 10 °C.min⁻¹ a 230 °C e permaneceu por 5 min, por um tempo total de execução de 35 min. A temperatura do injetor foi fixada em 250 °C. O hélio foi usado como gás de arraste em uma vazão de 1,0 mL.min⁻¹ no sistema de injeção splitless. A temperatura da linha de transferência foi de 250 °C. O espectrômetro de massa foi operado no modo de impacto eletrônico (70 eV) e a faixa de varredura de massa foi de 50 a 400 m.z-1 a 4,44 scan.s⁻¹.

Os compostos foram identificados usando o banco de dados da biblioteca NIST (2014) e combinando com o espectro de massa e índice de retenção linear. O índice de retenção linear (LRI) de cada composto foi calculado por meio dos tempos de retenção de uma série homóloga de n-alcanos C6-C20. As análises foram executadas em triplicata e os resultados foram expressos em área total do pico cromatográfico.

3.3.4.3 *Análise sensorial*

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) foi conduzida segundo metodologia adotada por Zhan et al. (2013), para a obtenção dos atributos sensoriais referentes aos flavorizantes produzidos. Doze painelistas treinados, com idades entre 22 e 40 anos, foram selecionados de acordo com disponibilidade e motivação em participar todos os dias do experimento.

A análise foi conduzida em laboratório de sensorial da Universidade Federal da Paraíba. Foram realizados quatro treinamentos específicos, em que na primeira sessão os painelistas discutiram sobre as características de aroma e cor para os atributos sensoriais. Na segunda e terceira sessões foram treinados para adotar um consenso sobre possíveis descritores, avaliando a cor pela intensidade do marrom e os cinco atributos de aroma, isto é: caldo de galinha artificial, osso de galinha cozido, frutos do mar, frango assado e ranço. Por fim, as amostras foram avaliadas em triplicata, usando a escala de intervalo de 10 pontos (0 para nenhum e 10 para extremamente forte).

As amostras foram codificadas em números aleatórios de três dígitos para evitar o efeito de ordem. A referência adotada para o atributo de aparência foi a paleta de cores em tons de marrom, do fraco B69E81 ao forte 90724F, rotulado como atributo “intensidade do marrom”. Para os atributos de aroma o tempero associado ao sabor galinha, utilizando caldo de macarrão instantâneo de galinha da marca Nissin – 5g do sachê diluído em 750 mL de água, rotulado como atributo “caldo de galinha artificial”; canja de galinha, utilizando ossos de coxa e sobrecoxa de galinha cozidos em panela de pressão, posteriormente triturados – 118,5g de ossos para 500 mL de água, rotulado como atributo “osso de galinha cozido”; aroma adocicado inerente aos frutos do mar, utilizando o caldo proveniente do cozimento do camarão sem cabeças e com cascas – referência forte com 125g de camarão para 190 mL de água e a fraca com 95 mL do caldo anterior, acrescido de 380 mL de água, rotulados como atributo “frutos do mar forte” e “frutos do mar fraco”; frango assado, utilizando de filé de peito de frango assado em grelha, sem temperos, rotulado como atributo para “assado”; e por fim, oxidação lipídica, utilizando de óleo de soja levemente oxidado para a referência fraca e óleo de soja altamente oxidado para a referência forte, rotulado como atributo “ranço”.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos dos hidrolisados e flavorizantes foram avaliados por análise de variância (ANOVA) utilizando-se o software Statistical Analysis System versão 11.0 (SAS,

2014), baseada em níveis de significância de 5%, seguida pelo teste de Tukey (aminoácidos livres, açúcares e hidrolisados) ou t student (flavorizantes) para comparação das médias.

REFERÊNCIAS

ADLER-NISSEN, J. **Enzymic Hydrolysis of Food Proteins**. New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1986.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 18th ed. Gaithersburg, MD, USA, 2010.

BENHABILES, M. S.; ABDI, N.; DROUICHE, N.; LOUNICI, H.; PAUSS, A.; GOOSEN, M. F. A.; MAMERI, N. Fish protein hydrolysate production from sardine solid waste by crude pepsin enzymatic hydrolysis in a bioreactor coupled to an ultrafiltration unit. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, n. 4, p. 922–928, 2012

BEZERRA, T.; ESTÉVEZ, M.; LACERDA, J. T.; DIAS, M.; JULIANO, M.; MENDES, M. A.; MORGANO, M.; PACHECO, M. T.; MADRUGA, M. Chicken combs and wattles as sources of bioactive peptides: Optimization of hydrolysis, identification by LC-ESI-MS2 and bioactivity assessment. **Molecules**, v. 25, n. 7, p. 1698, 2020.

BOUTHILET, R. J. A note on the nature of a flavor constituent from poultry meat. **Food Technology**, v. 3, n. 4, p. 118-118, 1949.

BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Ofício circular DOI/DIPOA N° 007/99, de 19 de maio de 1999. **Normatização e comercialização do frango Caipira ou frango Colonial, também denominado “Frango Tipo ou Estilo Caipira” ou “Tipo ou Estilo Colonial”**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 19 maio 1999.

CARRIJO, A. S.; FASCINA, V. B.; SOUZA, K. M. R. D.; RIBEIRO, S. D. S.; ALLAMAN, I. B.; GARCIA, A. M. L.; HIGA, J. A. Níveis de farelo da raiz integral de mandioca em dietas para fêmeas de frangos caipiras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, n. 1, p. 131-139, 2010.

CHIANG, J. H.; EYRES, G. T.; SILCOCK, P. J.; HARDACRE, A. K.; PARKER, M. E.

Changes in the physicochemical properties and flavour compounds of beef bone hydrolysates after Maillard reaction. **Food Research International**, v. 123, n. January, p. 642–649, 2019.

CLEMENTINO, C. de S.; MARTINS, D. M.; BRITTO, F. B.; BARBOSA, F. J. V.; LIMA, P. S. da C.; DINIZ, F. M. **Variabilidade fenotípica e genotípica em galinhas caipiras (*Gallus gallus domesticus*): resultados preliminares**. Embrapa Meio-Norte-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2007.

CORDEIRO, A. R. R. A.; MEDEIROS, L. L.; BEZERRA, T. K. A.; PACHECO, M. T. B.; GALVÃO, M. S.; MADRUGA, M. S. Effects of thermal processing on the flavor molecules of goat by-product hydrolysates. **Food Research International**. v. 138, p. 109758, 2020.

DONG, X. B.; LI, X.; ZHANG, C. H.; WANG, J. Z.; TANG, C. H.; SUN, H. M.; JIA, W.; LI, Y.; CHEN, L. L. Development of a novel method for hot-pressure extraction of protein from chicken bone and the effect of enzymatic hydrolysis on the extracts. **Food Chemistry**, v. 157, p. 339–346, 2014.

DONG, Z. Y.; LI, M. Y.; TIAN, G.; ZHANG, T. H.; REN, H.; QUEK, S. Y. Effects of ultrasonic pretreatment on the structure and functionality of chicken bone protein prepared by enzymatic method. **Food Chemistry**, v. 299, n. February, p. 125103, 2019.

FENG, Y. et al. Comparison of aroma-active compounds in broiler broth and native chicken broth by aroma extract dilution analysis (AEDA), odor activity value (OAV) and omission experiment. **Food Chemistry**, v. 265, n. May, p. 274–280, 2018.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v.226, n.1, p.497-509, 1957.

HAGEN, S. R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Pre column phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of amino acids in food. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.72, n.6, p.912-916, 1989.

HELLMEISTER FILHO, P.; MENTEN, J. F. M.; SILVA, M. A. N.; COELHO, A. A. D.; SAVINO, V. J. M. Efeito de genótipo e do sistema de criação sobre o desempenho de frangos tipo caipira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6 suppl 2, p. 1883–1889, 2003.

KHAN, M. I.; JO, C.; TARIQ, M. R. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors-A systematic review. **Meat Science**, v. 110, p. 278–284, 2015.

HOU, L.; XIE, J.; ZHAO, J.; ZHAO, M.; FAN, M.; XIAO, Q.; LIANG, J.; CHEN, F. Roles of different initial Maillard intermediates and pathways in meat flavor formation for cysteine-xylose-glycine model reaction systems. **Food Chemistry**, v. 232, p. 135–144, 2017.

KUMAR, N. S. S.; NAZEER, R. A.; GANESH, R. J. Functional properties of protein hydrolysates from different body parts of horse mackerel (*Magalaspis cordyla*) and croaker (*Otolithes ruber*). **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 5, n. 2, p. 105–110, 2012.

LASEKAN, A.; ABU BAKAR, F.; HASHIM, D. Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. **Waste Management**, v. 33, n. 3, p. 552–565, 2013.

LEMOS, A.V.; BITTAR D.Y.; NETO O.V.; JÚNIOR W.G.V. Avaliação do crescimento e desempenho de diferentes linhagens de frango caipira melhorado na região de Goianésia Goiás. **Pubvet**. v. 12, n. 4, p. 1-5, 2018.

MADRUGA, M. S.; ELMORE, J. S.; ORUNA-CANCHA, M. J.; BALAGIANNIS, D.; MOTTRAM, D. S Determination of some water-soluble aroma precursors in goat meat and their enrolment on flavour profile of goat meat. **Food Chemistry**, v. 123, p.513-520, 2010.

MARTÍNEZ-ALVAREZ, O.; CHAMORRO, S.; BRENES, A. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. **Food Research International**, v. 73, n. 1069, p. 204–212, 2015.

MORA, L.; REIG, M.; TOLDRÁ, F. Bioactive peptides generated from meat industry by-products. **Food Research International**, v. 65, n. 2014, p. 344–349, 2014.

NGO, D. H.; VO, T. S.; NGO, D. N.; WIJESEKARA, I.; KIM, S. K. Biological activities and potential health benefits of bioactive peptides derived from marine organisms. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, n. 4, p. 378–383, 2012.

QUEIROZ, A. L. M.; BEZERRA, T. K. A.; PEREIRA, S. de F.; SILVA, M. E. C.; GADELHA, C. A. de A.; GADELHA, T. S.; PACHECO, M. T. B.; MADRUGA, M. S. Functional protein hydrolysate from goat by-products: Optimization and characterization studies. **Food Bioscience**, v. 20, n. January, p. 19–27, 2017.

SANTOS, M. W.; RIBEIRO, A. G. P.; CARVALHO, L. S. Criação de galinha caipira para produção de ovos em regime semi-intensivo. Niteroi: Programa Rio Rural, 2009.

SIMON, C.; D.; MUMM, R.; HALL, R.; D. Mass spectrometry-based metabolomics of volatiles as a new tool for understanding aroma and flavour chemistry in processed food products. **Metabolomics**, v. 15, n. 41, 2019.

SUN, H. M.; WANG, J. Z.; ZHANG, C. H.; LI, X.; XU, X.; DONG, X. B.; HU, L.; LI, C. H. Changes of flavor compounds of hydrolyzed chicken bone extracts during maillard reaction. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 12, p. C2415–C2426, 2014.

TAKAHASHI, S. E.; MENDES, A. A.; SALDANHA, E. S. P. B.; PIZZOLANTE, C. C.; PELÍCIA, K.; GARCIA, R. G.; PAZ, I. C. L. A.; QUINTEIRO, R. R. Efeito do sistema de criação sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte tipo colonial. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n. 4, p. 624–632, 2006.

TOLDRÁ, F.; ARISTOY, M. C.; MORA, L.; REIG, M. Innovations in value-addition of edible meat by-products. **Meat Science**, v. 92, n. 3, p. 290–296, 2012.

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

VIOQUE, J.; VIOQUE, R. S.; CLEMENTE, A.; PEDROCHE, J.; MILLÁN, F. Partially Hydrolyzed Rapeseed Protein Isolates with Improved Functional Properties. **JAOCs**, v. 77, n. 4, p. 447–450, 2000.

VITA, G. F.; FERREIRA, I.; PEREIRA, M. A. V. C.; AZEVEDO, J. R.; SANAVRIA, A.; BARBOSA, C. G.; GALLO, S. S. M.; VASCONCELLOS, H. V. G. Eficácia de *Chenopodium ambrosioides* (erva-de-santa-maria) no controle de endoparasitos de *Gallus gallus* (galinha caipira). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 39–45, 2014.

WHITE, J. A.; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **Journal of Automatic Chemistry of Clinical Laboratory Automation**, v.8, n.4, p.170-177, 1986.

ZHAN, P.; TIAN, H.; ZHANG, X.; WANG, L. Contribution to aroma characteristics of mutton process flavor from the enzymatic hydrolysate of sheep bone protein assessed by descriptive sensory analysis and gas chromatography olfactometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 921–922, p. 1–8, 2013.

ZEPPA, G.; CONTERNO, L.; GERBI, V. Determination of Organic Acids, Sugars, Diacetyl, and Acetoin in Cheese by High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 2722-2726, 2001.

ZIDANE, A.; ABABOU, A.; METLEF, S.; NIAR, A.; BOUDEROUA, K. Growth and meat quality of three free-range chickens and commercial broiler under the same breeding conditions. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 40, p. 1–7, 2018.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão apresentados na forma de Artigo Científico e submetido em periódico de impacto na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ARTIGO 1

**FORMAÇÃO DE COMPOSTOS DE AROMA E SABOR A PARTIR DE HIDROLISADOS
PROTEICOS DE OSSOS DE FRANGO CAPIRA**

FORMAÇÃO DE COMPOSTOS DE AROMA E SABOR A PARTIR DE HIDROLISADOS PROTEICOS DE OSSOS DE FRANGO CAIPIRA

Resumo: Um dos principais subprodutos do abate do frango, o resíduo ósseo, constitui uma excelente fonte de proteínas, apresentando potencial de aproveitamento como hidrolisado proteico, obtido por hidrolise enzimática. Esta técnica tem possibilitado o aproveitamento de subprodutos cárneos, com ampla aplicação tecnológica, entre as quais cita-se a obtenção de flavorizantes. O objetivo desta pesquisa consistiu em elaborar flavorizante a partir de hidrolisados proteicos de ossos de frango caipira com potencial de utilização na indústria de alimentos. Inicialmente foi determinada a composição química parcial dos ossos de frango caipira, seguida da hidrolise enzima, utilizando-se as enzimas Alcalase (HA), Flavourzyme (HF) e uma mistura das mesmas na proporção de 1:1 (HAF). Os hidrolisados foram caracterizados em relação ao teor de aminoácidos livres e totais, perfil de açúcares, perfil volátil, cor instrumental e caracterização sensorial do aroma. Finalizando, foi elaborado o flavorizante utilizando o hidrolisado da flavourzyme, por ter apresentado componentes voláteis em maior quantidade e qualidade para o aroma cárneo, adicionado de glicose (FG) ou xilose (FX). Observou-se que o flavorizante FX apresentou maior intensidade de escurecimento pós reação de Maillard com valores de luminosidade (L^*) de 74,24 para 65,17; tendo-se detectado oito componentes de aroma a mais neste flavorizante em comparação ao FG. No entanto, observou-se que o painel sensorial não identificou diferenças significativas na qualidade aromática dos flavorizantes, não observando-se preferência ou escolha entre os dois. Logo, conclui-se que o FX pode ser utilizado como base do aroma cárneo.

Palavras-chaves: Reação de Maillard, subprodutos de frango, compostos voláteis, hidrolisado proteico, ossos de frango.

1 INTRODUÇÃO

Criado extensivamente e sem o uso de quimioterápicos, o frango caipira se exercita, busca alimentos como pasto e insetos, o que contribui para uma carne de textura, coloração e sabor marcantes. Esse tipo de criação atrai consumidores que são exigentes quanto à segurança alimentar e à nutrição mais próxima do natural, mudando o perfil do mercado industrial (CARRIJO et al. 2010; ZIDANE et al. 2018).

Nessa perspectiva, o mercado consciente demonstra preocupação com as questões ambientais e incentiva a utilização de subprodutos do abate para redução de danos ao meio ambiente e redução dos custos ao setor. Os subprodutos do abate do frango de corte podem representar até 37% do peso vivo total do animal e são compostos por ossos, cabeça, pele, penas, crista, barbela, aparas de carne, sangue, tecidos adiposos, pé e órgãos internos (BEZERRA et al. 2020; MORA; REIG; TOLDRÁ, 2014).

O resíduo ósseo é rico em nutrientes, com extensa quantidade de proteínas. O desperdício dessa fonte proteica estimula o desenvolvimento de novos métodos de processamento que sejam capazes de transformá-lo em produtos rentáveis e de potencial econômico (SUN et al. 2014).

Nesse sentido, a hidrólise enzimática tem se mostrado eficaz na extração e quebra de proteínas e peptídeos, além de permitir a recuperação de proteínas ou ainda a liberação de peptídeos de baixo peso e aminoácidos (DONG et al. 2019). Os hidrolisados proteicos têm se destacado pelo forte potencial de aplicação tecnológica para aproveitamento de subprodutos cárneos como os flavorizantes, intensificadores de sabor, emulsificantes, potencializadores na capacidade de ligação à água ou ainda como nutrientes a serem adicionados aos alimentos (CHIANG et al. 2019; QUEIROZ et al. 2017; DONG et al. 2014; MORA; REIG; TOLDRÁ, 2014; ZHAN et al. 2013).

A ação flavorizante dos hidrolisados proteicos pode ser atribuída aos peptídeos de baixo peso e/ou aminoácidos livres presentes, que conferem aroma desejável, podendo atuar como precursores para a obtenção de um flavorizante elaborado posteriormente (CHIANG et al. 2019; ZHAN et al. 2013).

Os aromas cárneos desejados pela indústria de alimentos ocorrem principalmente na formação de compostos aromáticos durante a reação de Maillard (RM), degradação oxidativa e térmica de lipídeos e combinação de ambas para a formação de aromas e sabores (SIMON; MUMM; HALL, 2019).

Dessa forma, processo de obtenção dos flavorizantes se caracteriza pelo desenvolvimento de compostos resultantes da RM, na qual existe a necessidade da aplicação de um açúcar redutor para que ocorra a interação com aminoácidos presentes no hidrolisado proteico, além da aplicação de calor (SUN et al. 2014) e pela auto-oxidação e vias de degradação lipídica que com a elevação da temperatura ocorre a produção de hidroperóxidos que levam a muitas rotas com formação de metabolitos relacionados ao aroma (SIMON; MUMM; HALL, 2019). Ao final desses processos, estabelecem-se contribuições para atributos sensoriais, tais como o aroma, sabor e cor aos produtos dos quais podem ser adicionados.

Diante do exposto, o estudo objetivou apresentar alternativa para a utilização de ossos de frango caipira, através da obtenção de hidrolisado proteico e posterior produção de flavorizante com aplicação industrial.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Os frangos caipiras foram adquiridos em comércio local na cidade de João Pessoa (Paraíba, Brasil), constando de SIF – Serviço de Inspeção Federal. Para obtenção dos ossos, a desossa foi iniciada após retirada da cabeça, pele, pés e órgãos internos. Os ossos foram limpos com faca e os resíduos removidos em água destilada. Posteriormente os ossos foram acondicionados, etiquetados e armazenados a -20 °C até o uso, segundo Zhan et al. (2013) com adaptações.

As enzimas proteolíticas utilizadas para obtenção dos hidrolisados proteicos foram a Alcalase® (*Bacillus licheniformis*) e a Flavourzyme®, ambas fornecidas pela Novozymes Latino Americana Ltda (Paraná, Brasil).

2.2 OBTENÇÃO DE RESÍDUO SECO DE OSSOS DE FRANGO CAIPIRA POR ALTA PRESSÃO E SECAGEM

Os ossos de frango caipira foram submetidos a um pré-tratamento de alta pressão, autoclavados a 121 °C por 4 horas. Posteriormente foi realizado o processo de secagem em estufa à 55 °C por 5 horas, com moagem em moinho de facas segundo Zhan et al. (2013), obtendo-se um RSO.

O resíduo seco de ossos (RSO) de frango caipira foi caracterizado pelas determinações dos teores de umidade, cinzas e proteínas conforme a metodologia da AOAC (2010), descrita nos procedimentos nº 39.1.03, 39.1.09 e 39.1.15, respectivamente. Os lipídeos foram dosados utilizando-se a metodologia de Folch, Lees e Sloane Stanley (1957).

Para a quantificação dos minerais utilizou-se um espectrômetro de emissão ótica com plasma com acoplamento indutivo (ICP OES 5100 VDV, Agilent Technologies, Tóquio, Japão) equipado com uma fonte de radiofrequência (RF) de 27 MHz usando a visão radial do detector óptico simultâneo, uma bomba peristáltica, uma câmara de nebulização ciclônica de

duplo passo, uma tocha de quartzo de 1,8 mm e um nebulizador tipo seaspray. Como gás do plasma o sistema utiliza o argônio líquido (Air Liquide, São Paulo, Brasil). As condições otimizadas de operação do ICP OES foram: potência do plasma, 1,20kW; vazão de argônio, 12,0 L min⁻¹; vazão de argônio auxiliar, 1,0 L min⁻¹; vazão de nebulização, 0,7 L min⁻¹; número de replicatas, 3; tempo de estabilização e de leitura, 12 s e comprimentos de onda, Ca (317,933 nm); Cu (324,754 nm); Fe (259,940 nm); K (766,491 nm); Mg (279,553 nm); Mn (257,610 nm); P (213,618nm), Na (589,592 nm) e Zn (206,200 nm). As curvas analíticas para os minerais foram preparadas a partir de diluições de padrões analíticos de 10 mg/100mL e de 1000 mg/100mL (Specsol - Quimlab, Jacareí, Brasil) nas faixas de 0,041 a 41,0 mg/100mL para Ca e Na; 0,061 a 61,0 mg/100mL para K; 0,062 a 62,0 mg/100mL para P; 0,015 a 14,5 mg/100mL para Mg e 0,001 a 1,0 mg/100mL para Cu, Fe, Mn e Zn, com coeficiente de correlação (r) superior a 0,9999.

2.3 ELABORAÇÃO DOS HIDROLISADOS DE FRANGO CAIPIRA

Foram elaborados três hidrolisados proteicos dos ossos de frango caipira: HF – Hidrolisado proteico de ossos de frango caipira utilizando a enzima Flavourzyme; HA – Hidrolisado proteico de ossos de frango caipira utilizando a enzima Alcalase; e HFA – Hidrolisado proteico de ossos de frango caipira utilizando a mistura das enzimas Flavourzyme e Alcalase (1:1).

A hidrólise enzimática dos ossos, após o pré-tratamento, foi realizada com 10g do RSO de frango caipira transferido para um béquer encamisado com banho termostatzado, previamente aquecido. Ao sistema foi adicionado 40 mL de água ultrapura, com agitação constante e verificação contínua do pH. Em seguida a enzima proteolítica (Alcalase ou

Flavourzyme ou a mistura das mesmas – 1:1) foi adicionada e os parâmetros de pH e temperatura foram mantidos conforme recomendação dos valores ótimos, fornecidos pelos fabricantes das enzimas utilizadas. Ao elaborar o HFA, a Alcalase foi usada na primeira etapa por 2 horas e posteriormente o pH foi ajustado para o uso da Flavourzyme. As hidrólises foram controladas por 240 min e a inativação enzimática se deu pelo uso de temperatura a 95 °C por 10 min conforme Zhan et al. (2013). Os hidrolisados foram centrifugados a 12.000 G por 10 min.

Após processos enzimáticos, os hidrolisados proteicos foram caracterizados e avaliados quanto ao potencial de formação de compostos aromáticos e/ou precursores para a RM ou de oxidação lipídica. O hidrolisado selecionado foi utilizado para a terceira etapa (descrita no item 3.3.6) para a elaboração do flavorizante. O grau de hidrólise das enzimas proteolíticas nos hidrolisados de ossos de frango caipira foram determinados pelo consumo de base, utilizando a metodologia descrita por Adler-Nissen (1986).

2.4 ELABORAÇÃO DO FLAVORIZANTE

Os produtos da RM foram obtidos por meio da mistura dos hidrolisados de ossos de frango caipira obtidos pelo o uso da flavourzyme com glicose ou xilose, na proporção de 1:0,068 (proteína:açúcar p/p), em frasco de vidro com tampa de rosqueável. O flavorizante elaborado com glicose (hexose) e xilose (pentose) foram denominados de FG e FX, respectivamente. As misturas tiveram o pH ajustado para 6,5 com HCl a 0,5 M e foram autoclavadas a 113 °C por 10 min de acordo com Chiang et al. (2019).

Após obtenção, os flavorizantes foram analisados em relação aos parâmetros de cor instrumental, perfil volátil e sensorial.

2.5. MÉTODOS

2.5.1. *Perfil de aminoácidos totais e livres*

Os aminoácidos totais foram hidrolisados à 110 °C/22h/vácuo, em seguida derivatizados com fenilisotiocianato (PITC) de acordo com as metodologias propostas por White, Hart e Fry (1986). Os aminoácidos livres foram extraídos mediante um processo mais brando que envolveu a agitação orbital por 60 minutos com ácido clorídrico a 0,1 mol/L, seguida de derivação com fenilisotiocianato (PITC), seguindo o método descrito por Hagen, Frost e Augustin (1989).

A separação dos aminoácidos livres e totais derivatizados (feniltiocarbamilaminoácidos / PTC-aa) foi realizada em Cromatógrafo Líquido de Alta Resolução (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan) em coluna de fase reversa C18 – Luna - Phenomenex (250 mm x 4,6 mm, 5 µm; Phenomenex Inc., Torrence, CA, USA). As fases móveis empregadas consistiram de um tampão acetato de pH 6,4 e uma solução de acetonitrila a 40%. A injeção da amostra foi efetuada automaticamente (50 µL) e a detecção ocorreu a 254 nm. A separação cromatográfica foi realizada a um fluxo constante de 1 mL / minuto, à temperatura de 35 °C. O tempo de corrida cromatográfica foi de 45 minutos e os resultados foram expressos em mg de aminoácido por 100 g de amostra. A quantificação foi realizada mediante a adição do padrão o interno ácido α -aminobutírico e identificados por comparação a uma mistura de padrões.

2.5.2 *Perfil de açúcares*

O perfil de açúcares foi determinado segundo Zeppa, Conterno e Gerbi (2001). Foram utilizadas 2 g da amostra em béquer de 50 mL e o peso foi registrado. Em seguida o material foi transferido para o frasco de mini-turrax, com o auxílio de 10 mL de água ultra pura.

Homogeneizado por 10 minutos, logo após transferido para tubo falcon de 15 mL. Posteriormente foi realizada uma centrifugação em temperatura ambiente por 10 minutos seguida de filtragem do sobrenadante em papel de filtro qualitativo e depois em filtro de seringa com poros de 0,45µm de diâmetro. O extrato foi utilizado para a determinação dos do perfil de açúcares. O armazenamento do extrato quando necessário foi em temperatura de congelamento, para aumentar a sua estabilidade.

O teor total de açúcares dos ossos de frango e do hidrolisado proteico foram determinados em cromatografo Líquido de Alta Eficiência marca VARIAN (Waters, Califórnia, USA), utilizando detector de índice de refração (Varian 356 - LC), equipado com sistema isocrático de solvente, válvula "Rheodyne" com alça de 20 µl; acoplado com uma coluna Hi-plex Ca (300 mm x 7,7 mm), temperatura do forno foi de 85 °C (Hi-plex Ca), fase móvel composta de água ultrapura. A separação cromatográfica foi realizada a um fluxo constante de 0,6 mL/min, injeção de 20 µL de amostra e tempo de corrida cromatográfica de 30 min (cromatógrafo VARIAN, Waters, Califórnia, USA).

O software de processamento dos dados foi o GALAXIE Chromatography Data System. Os cromatogramas das amostras foram comparados com os padrões dos componentes analisados e a quantificação foi realizada pela área composta em uma curva de calibração de cada açúcar, em cinco concentrações, dependendo do açúcar analisado. Os resultados foram expressos em miligrama de açúcar por 100 gramas de amostra.

2.5.3 Cor instrumental

A determinação dos parâmetros de cor instrumental (L^* , a^* e b^*) foi realizado utilizando colorímetro digital (Modelo CR300, Minolta, Osaka, Japão). Os parâmetros de luminosidade – preto / branco (L^*), vermelho / verde (a^*) e amarelo / azul (b^*) foram

determinados de acordo com as especificações do Commision Internationale de L'éclairage (CIE, 1986).

2.5.4.2 Perfil volátil

A extração de voláteis foi realizada usando a técnica de microextração em fase sólida Headspace (HS-SPME) com dispositivo SPME (Supelco, Bellefonte, EUA), segundo metodologia adaptada de Cordeiro et al. (2020). Uma alíquota de 2 mL de hidrolisado ou 4 g do RSO de frango caipira foi transferido para um frasco de vidro de 20 mL, sendo imediatamente selados com tampa com septo revestido de Teflon. Os voláteis foram extraídos a 50 °C atingindo o equilíbrio por 10 min. Depois disso, a fibra de Divinilbenzeno/Carboxeno/Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) 50/30 µm foi exposta ao headspace por 30 min de adsorção. A fibra utilizada foi condicionada de acordo com as especificações do fabricante antes do procedimento de extração.

As análises cromatográficas foram realizadas utilizando Cromatógrafo Gasoso 7890B (Agilent Technologies 5977B, Little falls, DE, EUA) equipado com coluna VF-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) e acoplado a Espectrômetro de Massa nas condições da metodologia de Sun et al. (2014): temperatura inicial do forno de 40 °C por 3 min, que aumentou de 5 °C.min⁻¹ a 120 °C e 10 °C.min⁻¹ a 230 °C e permaneceu por 5 min, por um tempo total de execução de 35 min. A temperatura do injetor foi fixada em 250 °C. O hélio foi usado como gás de arraste em uma vazão de 1,0 mL.min⁻¹ no sistema de injeção splitless. A temperatura da linha de transferência foi de 250 °C. O espectrômetro de massa foi operado no modo de impacto eletrônico (70 eV) e a faixa de varredura de massa foi de 50 a 400 m.z⁻¹ a 4,44 scan.s⁻¹.

Os compostos foram identificados usando o banco de dados da biblioteca NIST (2014) e combinando com o espectro de massa e índice de retenção linear. O índice de retenção

linear (LRI) de cada composto foi calculado por meio dos tempos de retenção de uma série homóloga de n-alcenos C6-C20. As análises foram executadas em triplicata e os resultados foram expressos em área total do pico cromatográfico.

2.6 ANALISE SENSORIAL DOS FLAVORIZANTES (FG e FX)

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) foi conduzida segundo metodologia adotada por Zhan et al. (2013), para a obtenção dos atributos sensoriais referentes aos flavorizantes produzidos. Doze painelistas treinados, com idades entre 22 e 40 anos, foram selecionados de acordo com disponibilidade e motivação em participar todos os dias do experimento.

A análise foi conduzida em laboratório de sensorial da Universidade Federal da Paraíba. Foram realizados quatro treinamentos específicos, em que na primeira sessão os painelistas discutiram sobre as características de aroma e cor para os atributos sensoriais. Na segunda e terceira sessões foram treinados para adotar um consenso sobre possíveis descritores, avaliando a cor pela intensidade do marrom e os cinco atributos de aroma, isto é: caldo de galinha artificial, osso de galinha cozido, frutos do mar, frango assado e ranço. Por fim, as amostras foram avaliadas em triplicata, usando a escala de intervalo de 10 pontos (0 para nenhum e 10 para extremamente forte).

As amostras foram codificadas em números aleatórios de três dígitos para evitar o efeito de ordem. A referência adotada para o atributo de aparência foi a paleta de cores em tons de marrom, do fraco B69E81 ao forte 90724F, rotulado como atributo “intensidade do marrom”. Para os atributos de aroma o tempero associado ao sabor galinha, utilizando caldo de macarrão instantâneo de galinha da marca Nissin – 5g do sachê diluído em 750 mL de água, rotulado como atributo “caldo de galinha artificial”; canja de galinha, utilizando ossos de coxa e sobrecoxa de galinha cozidos em panela de pressão, posteriormente triturados –

118,5g de ossos para 500 mL de água, rotulado como atributo “osso de galinha cozido”; aroma adocicado inerente aos frutos do mar, utilizando o caldo proveniente do cozimento do camarão sem cabeças e com cascas – referência forte com 125g de camarão para 190 mL de água e a fraca com 95 mL do caldo anterior, acrescido de 380 mL de água, rotulados como atributo “frutos do mar forte” e “frutos do mar fraco”; frango assado, utilizando de filé de peito de frango assado em grelha, sem temperos, rotulado como atributo para “assado”; e por fim, oxidação lipídica, utilizando de óleo de soja levemente oxidado para a referência fraca e óleo de soja altamente oxidado para a referência forte, rotulado como atributo “ranço”.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos dos hidrolisados e flavorizantes foram avaliados por análise de variância (ANOVA) utilizando-se o software Statistical Analysis System versão 11.0 (SAS, 2014), baseada em níveis de significância de 5%, seguida pelo teste de Tukey (aminoácidos livres, açúcares e hidrolisados) ou t student (flavorizantes) para comparação das médias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E QUANTIFICAÇÃO DE MINERAIS DO RESÍDUO SECO DE OSSOS DE FRANGO CAIPIRA

O RSO de frango caipira apresentou altos valores para o conteúdo proteico e lipídico, 26,27g/100g e 12,21g/100g, respectivamente. Dong et al. (2014) mencionam resultado semelhante quanto ao conteúdo de proteína bruta em extrato de ossos de frango (25,59%). Já

em relação ao teor de lipídeos dos ossos de frango caipira, Wang et al. (2016) reportaram valores de 13,41%, corroborando com o resultado encontrado no presente estudo.

A presente composição faz desse subproduto uma excelente fonte para hidrólise proteica, uma vez que esse método utiliza proteínas para obtenção de peptídeos e aminoácidos que são importantes precursores de sabor pela RM e apresentam-se com potencialidades bioativas e tecnológicas. A degradação do conteúdo gorduroso contribui com uma grande quantidade de voláteis encontrados na carne cozida, como hidrocarbonetos alifáticos, aldeídos, cetonas, álcoois, ácidos carboxílicos e ésteres (MOTTRAM, 1998).

O conteúdo de umidade de ossos de frango é bem descrito na literatura por Fonkwe e Singh (1994) como sendo aproximadamente 51%. No entanto, após processamento térmico em estufa, o RSO de frango caipira deste estudo, apresentou o valor de 29,59% provavelmente devido a concentração de componentes da amostra resultante do tratamento térmico.

Com valores de 27,26%, o conteúdo de cinzas encontrado no RSO de frango caipira difere dos valores fornecidos pela literatura, descrito como 15% por Dong et al. (2019) em ossos de frango industrial. No entanto, é provável que essa diferença reflita além da variedade, o tipo de criação, ocasionando aumento da densidade óssea, estimulada pela atividade física (caminhar e pousar). Esse tipo de comportamento é recorrente em aves do tipo caipira, o que proporciona um reservatório mineral no sistema esquelético, de importante papel na saúde do frango (EVARIS; SARMIENTO-FRANCO; SANDOVAL-CASTRO, 2021).

Como esperado, o perfil de minerais dos ossos de frango caipira (Tabela 1) apresenta maior predominância do conteúdo de cálcio e fósforo, contribuindo com aproximadamente 95,83% do perfil de minerais. Assim como em diferentes subprodutos da indústria, o conteúdo mineral do subproduto ósseo de frango caipira demonstra potencial para ser

utilizado como ingrediente na indústria de alimentos, podendo contribuir com as necessidades diárias de minerais, além de colaborar para o enriquecimento de produtos.

Tabela 1. Conteúdo de minerais dos ossos de frango caipira.

Elemento (mg/100g)	Média ± Desvio padrão
Cálcio	11.565,00 ± 417,00
Cobre	0,06 ± 0,006
Ferro	9,07 ± 0,23
Fósforo	4.554,00 ± 80,00
Magnésio	192,00 ± 3,00
Manganês	0,23 ± 0,002
Potássio	283,00 ± 4,00
Sódio	210,00 ± 3,00
Zinco	7,56 ± 0,006

3.2 GRAU DE HIDRÓLISE

Durante o processo proteolítico foi avaliado o GH dos três hidrolisados (HF, HA e HFA) e as curvas estão apresentadas na Figura 1. Analisando os valores pode-se observar que a enzima Alcalase apresentou maior GH (20,59%). Conhecida pela intensa capacidade de quebra de ligações peptídicas, esta enzima é inespecífica e de alto poder hidrolítico (TOLDRA et al. 2018). Cordeiro et al. (2020) e Queiroz et al. (2017) constatarem resultados semelhantes ao relatar que o nível mais alto de hidrólise foi obtido pelo uso da alcalase em proteínas de vísceras caprinas.

A atividade enzimática com diferentes peptidases, em proteínas de origem alimentar, resulta em diferentes padrões de peptídeos. Toldrá et al. (2018) relata atividade de exopeptidase em algumas enzimas, dentre as quais, a Alcalase 2.4 L (Novozymes) e a Flavourzyme 1000 L (Novozymes) foram citadas. Tal atividade remete a ação de aminopeptidase e carboxipeptidase nos terminais N e C com diminuição progressiva do tamanho dos peptídeos com a liberação de aminoácidos livres. Ao se tratar do HFA, o GH não

se manteve tão elevado quanto no HA. Esse comportamento pode se relacionar com a inespecificidade da alcalase e consequente competição pelo mesmo substrato.

Diferentes GH do hidrolisado proteico podem servir de substratos que poderão proporcionar diferentes compostos de aroma e sabor durante a RM (XU et al, 2019). No entanto, para obtenção de um flavorizante o controle do GH é importante, mas nem sempre o maior GH proporciona a liberação de melhores substâncias aromáticas ou precursores para a indústria de alimentos.

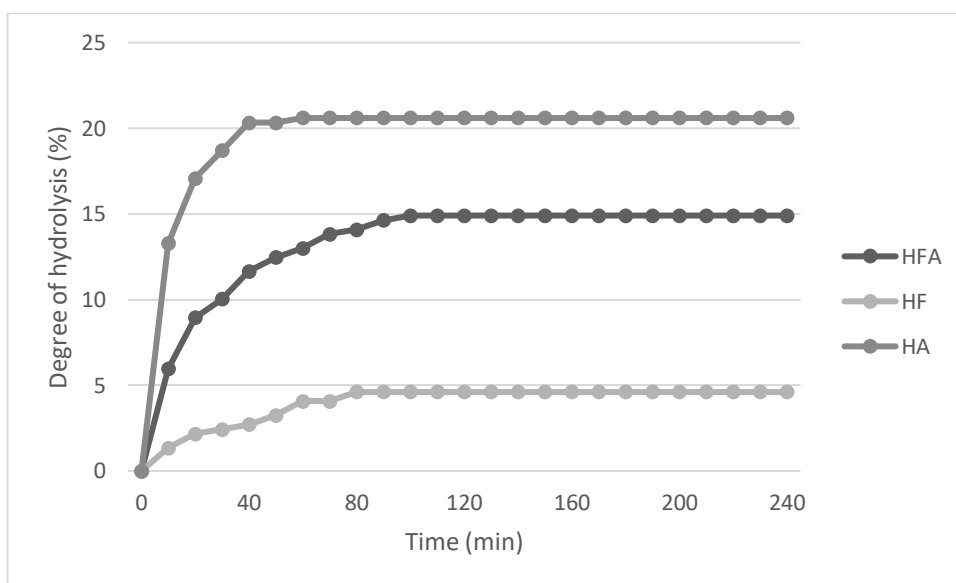


Fig. 1. Curva de hidrólise dos ossos de frango caipira.

3.4 PERFIL DE AMINOÁCIDOS TOTAIS E LIVRES

No perfil de aminoácidos totais dos ossos de frango caipira foram identificados 17 aminoácidos: ácido aspártico, ácido glutâmico, serina, glicina, histidina, arginina, treonina, alanina, prolina, tirosina, valina, metionina, cistina, isoleucina, leucina, fenilalanina e lisina (Tabela 2).

O conteúdo de aminoácidos totais foi semelhante ao relatado por Dong et al. (2014), em extrato ósseo de frango, com presença de aminoácidos essenciais como a lisina, treonina,

leucina, valina, tirosina e isoleucina. Destacam-se maiores proporções quantificadas de arginina (751,98 mg/100g), leucina (492,84 mg/100g), lisina (425,62 mg/100g), valina (375,96 mg/100g) e treonina (299,62 mg/100g).

A eficiência do processo proteolítico, na liberação de aminoácidos foi essencial, uma vez que os aminoácidos livres presentes não foram encontrados na amostra de RSO de frango caipira (matéria-prima).

O perfil de aminoácidos livres dos hidrolisados revelou a presença de 17 aminoácidos, que apresentaram concentrações diferentes em decorrência da especificidade da enzima proteolítica utilizada (Alcalase, Flavourzyme ou a mistura 1:1). Desta forma, pode-se observar através da Tabela 2, que o hidrolisado HFA apresentou maiores proporções da maior parte dos aminoácidos identificados. Os valores de leucina e fenilalanina foram semelhantes entre o HF e o HFA, sendo estes aminoácidos, importantes precursores na geração térmica de compostos de aroma característicos de carne assada e torrado (ZHAN et al. 2013).

Na RM os aminoácidos livres exercem papel fundamental, devido a associação entre estes e a formação de compostos voláteis (SUN et al. 2014). Kang; Alim e Song (2019) mencionam a importância do resíduo de aminoácido N- terminal de peptídeos na reação não enzimática, já que os peptídeos reativos de Maillard apresentam características estruturais contendo Leu(Ile)-X, Val-X, Phe-X, cisteína e que entre eles, Leu-Ala, Phe-Ser, Ala-Tyr e Val-Met foram relacionados precursores de sabor em hidrolisados de frango via RM, concluindo ainda, que quando o aminoácido N-terminal é cisteína, leucina, isoleucina ou fenilalanina, o peptídeo exibirá alta reatividade na reação.

Entretanto, junto à RM e a produção de compostos de aroma, os aminoácidos também são detectados via receptores gustativos nas papilas gustativas da língua e no epitélio do palato. Um dos sabores conhecido como umami, é particularmente atribuído aos aminoácidos ácido glutâmico, alanina e ácido aspártico (ZHAO; SCHIEBER; GÄNZLE, 2016). Sun et al.

(2014) mencionam que aminoácidos com cadeias laterais hidrofóbicas geralmente possuem sabor amargo desagradável, corroborando com informações descritas por Ramalingam, Song e Hwang (2019), que também apontaram a glicina e alanina como aminoácidos de doçura consideravelmente forte.

Além disso, alguns aminoácidos possuem mais de uma característica enquanto ao gosto. A arginina possui gosto amargo e leve adocicado, enquanto a serina tem gosto doce e toque azedo e umami. O ácido glutâmico é combinação entre azedo e umami e a alanina doce e leve umami (DASHDORJ; AMNA; HWANG, 2015).

Ainda que o HA tenha alcançado o maior grau de hidrólise, o HFA e o HF demonstraram-se amplamente superiores em relação a quantidade liberada de aminoácidos livres como a serina, treonina, valina, isoleucina e leucina, importantes precursores para a formação do sabor cárneo por fornecer aldeídos de Strecker e compostos aromáticos como as pirazinas (MADRUGA et al. 2010), dentre os já citados.

Tabela 2. Perfil de aminoácidos totais e livres de ossos de frango caipira e hidrolisados proteicos.

Aminoácidos (AA)	AA totais (g/100g amostra) RSO de frango caipira*	AA livres (mg/100 g de proteína)		
		Hidrolisados**		
		HF	HA	HFA
Ácido Aspártico	0,940	8,98 ^a	nd	nd
Ácido Glutâmico	2,105	29,73 ^c	54,84 ^b	75,94 ^a
Serina	1,601	67,14 ^a	21,05 ^b	77,49 ^a
Glicina	0,608	106,95 ^b	43,70 ^c	274,19 ^a
Histidina	8,334	85,31 ^b	46,28 ^c	126,73 ^a
Arginina	2,229	402,93 ^b	109,75 ^c	751,98 ^a
Treonina	1,005	148,91 ^b	83,39 ^c	299,62 ^a
Alanina	2,034	205,40 ^b	56,53 ^c	236,12 ^a
Prolina	2,255	54,02 ^a	22,46 ^b	23,27 ^b

Tirosina	0,628	222,83 ^b	54,15 ^c	257,55 ^a
Valina	1,061	214,12 ^b	55,01 ^c	375,96 ^a
Metionina	0,438	99,61 ^b	16,47 ^c	152,60 ^a
Cistina	0,099	15,28 ^b	8,60 ^b	89,75 ^a
Isoleucina	0,455	139,39 ^b	30,33 ^c	206,09 ^a
Leucina	1,208	438,29 ^b	37,73 ^c	492,84 ^a
Fenilalanina	1,230	283,67 ^a	10,92 ^b	271,37 ^a
Lisina	1,488	182,27 ^b	33,99 ^c	425,62 ^a
Total	27,718	2704,83	685,2	4137,12

*Valores da média dos aminoácidos totais contidos nos ossos pré-tratados.

**Valores referentes aos aminoácidos livres contidos nos hidrolisados.

3.5 PERFIL DE AÇÚCARES

O conteúdo de açúcares identificado no RSO de frango caipira e nos hidrolisados mostrou a presença de maltose, glicose, frutose e ribose. A maltose esteve presente em maior concentração, com 342,97 mg/100g, no RSO de frango caipira, seguida pela glicose (221,10mg/100g), frutose (75,00mg/100g) e ribose (4,18mg/100g). A presença desses açúcares tem sido relatada em subprodutos cárneos e sabe-se que o conteúdo destes açúcares, durante cozimento, ou seja, aplicação de calor, é essencial para o desenvolvimento de aromas cárneos (MADRUGA et al., 2010; CORDEIRO et al., 2020).

Avaliando o conteúdo dos açúcares detectados em relação ao processo enzimático (Tabela 3), observa-se que todos apresentaram redução significativa, quando comparados com a matéria-prima (RSO). Isso demonstra que houve consumo desses açúcares durante o processo, e possivelmente a produção de compostos aromáticos e de cor discutidos nas sessões posteriores.

O hidrolisado obtido com a alcalase (HA) destacou-se dos demais em função da maior redução no conteúdo de glicose e frutose, comparado aos teores da matéria-prima. Observa-se que o hidrolisado HF e HFA apresentaram maior redução da maltose. Como era de se esperar, a ribose foi o açúcar de menor teor tanto no RSO, quanto em todos os hidrolisados, resultado semelhante ao relatado por Madruga et al. (2010), ao mencionar o conteúdo de glicose superior ao da frutose, seguido da ribose em menor proporção em bovinos, suínos, ovinos e frangos.

Tabela 3. Perfil de açúcares de ossos de frango caipira e hidrolisados proteicos.

Açúcares (mg/100g)	Osso frango caipira (Pré-tratado)	Hidrolisados		
		HF	HA	HFA
Maltose	342,97 ± 3,84 ^a	132,32 ± 1,92 ^c	175,21 ± 2,21 ^b	135,08 ± 1,91 ^c
Glicose	221,10 ± 6,72 ^a	51,02 ± 0,52 ^c	35,63 ± 0,38 ^d	78,24 ± 0,70 ^b
Frutose	75,00 ± 1,80 ^a	73,02 ± 2,47 ^a	41,96 ± 0,315 ^c	63,98 ± 0,69 ^b
Ribose	4,18 ± 0,10 ^{ab}	3,56 ± 0,35 ^{bc}	3,14 ± 0,068 ^c	4,61 ± 0,33 ^a
Total	643,25	259,92	255,94	281,91

HF - Hidrolisado proteico de ossos de frango caipira elaborado com Flavourzyme; HA - Hidrolisado proteico de ossos de frango caipira elaborado com Alcalase; HFA - Hidrolisado proteico de ossos de frango caipira elaborado com a mistura de Flavourzyme e Alcalase (1:1). Médias com letras diferentes dentro de uma mesma linha apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), pelo Teste de Tukey.

3.6 PERFIL VOLÁTIL DOS HIDROLISADOS PROTEICOS DE OSSOS DE FRANGO CAIPIRA

Oitenta e quatro compostos voláteis foram identificados nas amostras analisadas de RSO de frango caipira e nos hidrolisados proteicos - HF, HA e HFA (Tabela 4), distribuídos em treze (13) classes químicas, isto é: aldeídos (34), álcoois (13), hidrocarbonetos (9), cetonas

(9), ésteres (5), terpenos (3), aromáticos (2), ácidos (1), furanos (1), pirazinas (1), piridina (1) componentes sulfurados (1) e outros (4).

Do total obtido, 55 compostos não foram identificados no RSO de frango (matéria-prima), demonstrando a importância da atuação enzimática no aproveitamento de proteínas de subprodutos da indústria de processamento animal, liberando aminoácidos que posteriormente atuarão como precursores de aroma.

Os aldeídos foram a principal classe identificada, na qual 11 compostos foram encontrados no RSO de frango caipira e 30, 35 e 33 compostos, nos hidrolisados HA, HF e HAF, respectivamente. O nonanal foi o composto chave, no hidrolisado HA, apresentando-se como o composto mais abundantemente identificado, em concordância ao descrito por Kerth e Miller (2015) que retrataram o nonanal e o hexanal como voláteis comuns na hidrólise térmica de ácido graxo. Conforme descrito no item 3.1, o RSO de frango caipira apresentou concentração lipídica de aproximadamente 12%, portanto, devido a esse conteúdo gorduroso, durante o processo de hidrólise, ocorreram alterações tanto nas proteínas quanto na fração lipídica por oxidação dos lipídeos.

A maioria dos componentes dessa classe química, bem como álcoois, cetonas, ésteres, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos alifáticos têm sua origem na oxidação lipídica de ácidos graxos. Tal reação pode ocasionar sabores rançosos, conhecidos como *off-flavours*, no entanto, ao tratar-se da carne cozida estas interações acontecem rapidamente e o perfil volátil proporcionado contribui para sabores desejáveis (MOTTRAM, 1998).

É relatado na literatura que a degradação dos lipídeos é responsável por atribuir o sabor particular de cada espécie animal e que geralmente seus compostos derivados possuem alto limiar de detecção como aroma. Porém, a maioria desses compostos inclui aldeídos saturados e insaturados de seis a dez carbonos, bastante voláteis, que desempenham importantes funções no aroma cárneo (KERTH; MILLER, 2015).

Aldeídos considerados de importância odorífera para aroma de frango assado, alcançaram maior concentração após o tratamento hidrolítico. O hexanal obteve valor máximo no hidrolisado HF. O benzaldeído também apresentou destaque nos HF e HFA, após hidrólise. O octanal e o (E)-2-octenal obtiveram média máxima no hidrolisado HF, enquanto que um dos compostos chaves de frango assado, decanal, alcançou sua maior média no hidrolisado HA.

Os álcoois alifáticos, também associados à degradação de ácidos graxos, são conhecidos por contribuírem com o sabor da carne assada por meio de seus componentes insaturados por terem baixo limiar de detecção (CORDEIRO, 2020). O 1-Octen-3-ol é considerado um composto chave importante para o aroma geral de carne (MA et al. 2020; LIU et al. 2020) e no presente estudo, os resultados constaram de maior produção desses compostos no hidrolisado HF.

Conhecidas por descritores importantes de nozes e tostado, as alquilpirazinas foram identificadas de maneira escassa em nossos hidrolisados. A 2,6-dimetilpirazina não foi detectada no RSO e no hidrolisado HA, mas apresentou valores discrepantes entre os hidrolisados HF e HFA, para valores de 0,22⁵ e 53,81⁵, respectivamente. Apesar de ser considerada como composto chave para o aroma de carne assada de frango, os valores inferiores da 2,6-dimetilpirazina podem ser justificados pela ausência de temperatura para formação do composto em questão, que são majoritariamente formados em temperaturas entre 120 a 150 °C.

De forma geral, o perfil de voláteis encontrado no presente estudo, corrobora com o obtido por Wang et al. (2016) que analisou o efeito do tempo e da temperatura na extração de compostos aromáticos em extrato de ossos de frango. Durante o cozimento, muitas são as reações termicamente induzidas entre os componentes não voláteis dos tecidos, no entanto os

voláteis formados determinam os atributos de aroma e contribuem para importantes sabores característicos da carne (MOTTRAM, 1998).

Table 4. Descrição e conteúdo dos compostos voláteis do resíduo seco do osso e hidrolisados proteicos.

Nr	IRL	Compounds	Peak area (x10 ⁵)				Aroma description
			RSO*	HF	HA	HFA	
<i>Acids</i>							
1	1373	Decanoic acid	nd	1,53 ^{ab}	1,97 ^a	1,40 ^b	Fatty
<i>Alcohol</i>							
2	765	1-Pentanol	2,33 ^b	4,57 ^a	2,53 ^{ab}	3,33 ^{ab}	Pungent, fermented, yeasty, chemical, alcoholic
3	868	1-Hexanol	9,03 ^a	1,39 ^b	1,32 ^b	1,17 ^b	Herbal, chemical, oily, fruity, alcoholic
4	955	2-Hepten-1-ol	nd	1,52 ^a	0,76 ^b	0,59 ^{bc}	Fatty, pungent, green
5	970	1-Heptanol	0,90 ^c	18,28 ^b	24,57 ^a	18,96 ^b	Green, fruity
6	980	1-Octen-3-ol	3,95 ^c	49,59 ^a	43,33 ^{ab}	31,93 ^b	Earthy, green, vegetable
7	1067	(E)-2-Octen-1-ol	0,31 ^d	11,38 ^a	9,13 ^b	6,79 ^c	Green, citric, vegetable
8	1071	1-Octanol	0,94 ^c	61,14 ^{ab}	71,28 ^a	53,65 ^b	Waxy, green, citric, floral
9	1080	1-Nonen-3-ol	nd	0,93 ^a	0,31 ^b	nd	Earthy, green, mushroom
10	1092	2-Methyl-3-octanol	nd	nd	18,77 ^a	nd	
11	1173	1-Nonanol	0,43 ^c	1,90 ^b	2,98 ^a	2,06 ^{ab}	Floral, fresh
12	1257	(Z)-4-Decen-1-ol	nd	0,72 ^a	0,43 ^a	nd	Waxy, fatty, fruity
13	1273	1-Decanol	nd	5,76 ^a	6,72 ^a	6,24 ^a	Fatty, Waxy, floral, sweet
14	1277	2-Butyl octanol	nd	1,46 ^a	2,16 ^a	1,65 ^a	
<i>Aldehydes</i>							
15	800	Hexanal	14,02 ^c	118,00 ^a	55,96 ^b	83,61 ^b	Green, grass, fatty
16	854	2-Hexenal	nd	1,42 ^a	0,86 ^b	1,02 ^{ab}	Green, fruity, vegetable
17	899	Z-4-Heptenal	nd	1,06 ^a	0,71 ^b	0,39 ^c	Green, oily, fatty, milky
18	900	Heptanal	0,75 ^b	17,07 ^a	13,04 ^a	18,40 ^a	Green, fresh, fatty
19	958	(Z)-Hept-2-enal	1,30 ^c	33,01 ^a	18,57 ^b	20,72 ^b	
20	962	Benzaldehyde	2,31 ^c	82,81 ^a	61,36 ^b	83,98 ^a	Fruity, almond, oily
21	1003	Octanal	13,30 ^b	81,07 ^a	76,86 ^a	71,04 ^a	Aldehydic, waxy, citric
22	1012	(E,E)-2,4-Heptadienal	nd	9,25 ^a	5,45 ^b	2,52 ^c	Fatty, green, oily
23	1045	Phenylacetaldehyde	nd	3,96 ^a	nd	nd	Green, floral, fermented, earthy

[illegible]

51	1126	Methyl octanoate	nd	0,89 ^b	1,41 ^a	1,69 ^a	Waxy, green, sweet, aldehydic, herbal, vegetable
52	1180	Allyl heptanoate	nd	1,33 ^c	8,88 ^a	4,85 ^b	Fruity, sweet, waxy
53	1287	Pentyl hexanoate	nd	0,61 ^b	1,32 ^a	0,52 ^b	
54	1325	Methyl decanoate	nd	7,65 ^a	2,21 ^b	1,59 ^{bc}	Fermented, oily, fruity
55	1526	Methyl dodecanoate	nd	0,35 ^a	nd	nd	Waxy, mushroom
<i>Furan</i>							
56	993	2-pentyl-furan	0,74 ^d	47,28 ^c	167,87 ^a	77,67 ^b	Fruity, green, earthy, vegetable
<i>Hydrocarbons</i>							
57	1000	Decane	0,45 ^c	4,95 ^a	3,81 ^b	0,37 ^c	
58	1064	2-Methyldecane	nd	nd	10,67 ^a	nd	
59	1200	Dodecane	0,75 ^a	nd	nd	nd	
60	1300	Tridecane	nd	2,40 ^a	2,14 ^{ab}	1,74 ^b	
61	1348	5-Methyltridecane	nd	3,92 ^{ab}	4,11 ^a	5,02 ^a	
62	1371	3-Methyltridecane	nd	0,84 ^a	0,99 ^a	1,08 ^a	
63	1500	Pentadecane	nd	0,23 ^b	0,41 ^a	0,21 ^b	Waxy
64	1539	2,6,10-Trimethyltetradecane	nd	0,29 ^a	nd	0,19 ^a	
65	1600	Hexadecane	nd	0,41 ^a	nd	0,27 ^a	
<i>Ketones</i>							
66	891	2-Heptanone	0,39 ^c	5,14 ^b	8,72 ^a	8,16 ^a	Cheesy, spicy, fruity, herbal, woody
67	984	2,5-Octanedione	5,29 ^c	66,17 ^a	28,81 ^b	37,14 ^b	
68	1031	3-Ethyl-2-methyl-1,3-hexadiene	0,37 ^c	18,18 ^b	24,82 ^{ab}	28,74 ^a	
69	1040	3-Octen-2-one	nd	25,98 ^b	35,50 ^a	21,58 ^b	Earthy, mushroom, sweet, oily
70	1091	3,5-Octadien-2-one	0,48 ^c	45,90 ^a	24,74 ^b	29,61 ^b	Fatty, fruity, mushroom
71	1142	3-Non-3-en-2-one	nd	1,52 ^b	2,95 ^a	1,94 ^b	Fruity, oily, spicy
72	1193	2-Decanone	0,27 ^c	12,44 ^b	23,24 ^a	14,45 ^b	Floral, citric, fatty
73	1283	3-Undecanone	nd	6,40 ^a	3,33 ^b	5,54 ^a	
74	1491	β-Ionone	nd	2,44 ^a	2,74 ^a	2,17 ^a	Floral, woody, sweet
<i>Others</i>							
75	1174	1,3,5-Undecatriene	nd	0,66 ^b	1,11 ^a	0,80 ^b	

76	1307	Dibutylformamide	nd	1,09 ^a	0,89 ^a	0,81 ^a	
77	1397	1-Tetradecyne	nd	0,27 ^a	0,23 ^a	0,33 ^a	
78	1519	2,4-Di-tert-butylphenol	nd	0,60 ^a	0,13 ^b	nd	
<i>Pyrazines</i>							
79	917	2,6-Dimethylpyrazine	nd	0,22 ^b	nd	53,81 ^a	Chocolate, nuts, roast, roasted meat
<i>Pyridines</i>							
80	1202	2-Pentylpyridine	nd	6,09 ^a	6,49 ^a	3,07 ^{ab}	Fatty, mushroom, herbal
<i>Sulphur-containing</i>							
81	1022	2-Acetylthiazole	0,77 ^a	0,59 ^{ab}	0,37 ^{bc}	0,24 ^c	Popcorn, nuts, peanut, hazelnut
<i>Terpenes</i>							
82	1025	p-Cymene	0,23 ^c	1,17 ^{ab}	0,79 ^{bc}	1,58 ^a	Terpenic, fresh, citric, woody, spicy
83	1030	Limonene	0,50 ^a	0,43 ^a	0,25 ^a	0,29 ^a	Citric, fresh
84	1453	Geranyl acetone	nd	0,63 ^a	0,56 ^a	0,43 ^a	Floral, fresh, fruity

RSO - Dry bone residue; HF - Country chicken bone protein hydrolysate prepared with Flavourzyme; HA - Country chicken bone protein hydrolysate prepared with Alcalase; HFA - Country chicken bone protein hydrolysate prepared with a mixture of Flavourzyme and Alcalase (1:1). Means with different letters within the same row showed significant difference ($p < 0.05$), by Tukey test.

3.6.1 Análise de cluster hierárquica e mapa de calor aplicado ao perfil volátil do RSO e hidrolisados proteicos

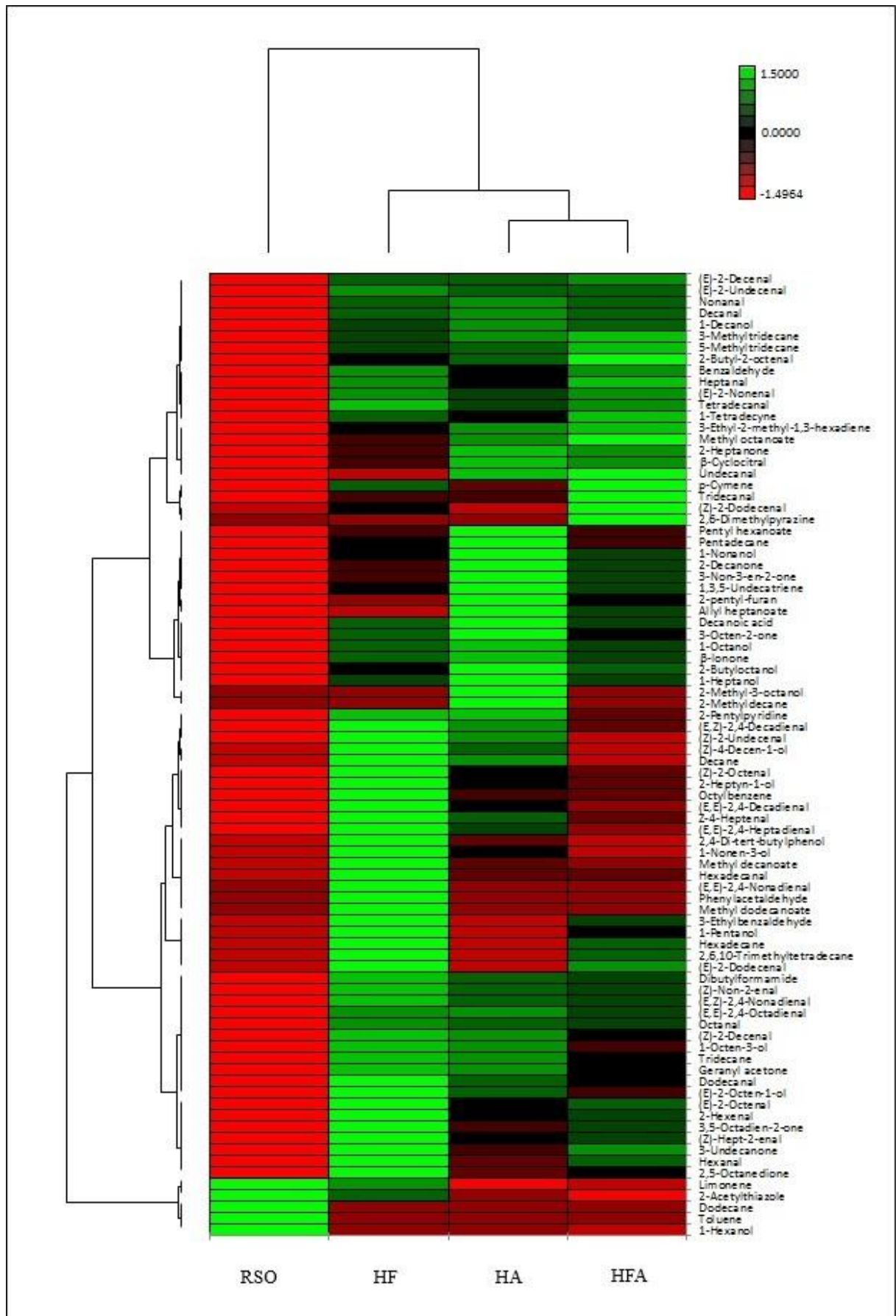
Uma análise hierárquica de cluster e mapa de calor (Figura 2) foi realizada considerando todos os compostos identificados (Tabela 4) no RSO de frango caipira e nos respectivos hidrolisados proteicos (HF, HA e HFA). Os voláteis foram agrupados verticalmente e a intensidade do composto (área do pico) sinalizada por diferentes cores, quanto mais verde claro maior a área do pico, enquanto que quanto mais vermelho claro, menor a área do pico. A análise de cluster hierárquica agrupou as amostras em três clusters. O primeiro cluster, composto pelo RSO, encontra-se agrupado de maneira separada dos demais devido a menor concentração da maioria dos componentes identificados, com exceção para os cinco últimos compostos: Limonene, 2-Acetylthiazole, Dodecane, Toluene e 1-Hexanol.

O segundo cluster, o qual inclui o HF, demonstrou superioridade de picos com maior intensidade, em relação ao terceiro cluster, agrupado pelo HA e HFA. Essa superioridade ocorre pela maior expressão dos seguintes voláteis: Tetradecanal, 2-Pentylpyridine, (E-Z)-2,4-Decadienal, (Z)-2-Undecenal, (Z)-4-Decen-1-ol, Decane, (Z)-2-Octenal, 2-Heptyn-1-ol, Octylbenzene, (E,E)-2,4-Decadienal, Z-4-Heptenal, (E,E)-2,4-Heptadienal, 2,4-Di-tert-butylphenol, 1-Nonen-3-ol, Methyldecanoate, Hexadecanal, (E,E)-2,4-Nonadienal, Phenylacetaldehyde, Methyl dodecanoate, 3-Ethylbenzaldehyde, 1-Pentanol, Hexadecane, 2,6,10-Trimethyltetradecane, (E)-2-Dodecenal, Dibutylformamide, (Z)-Non-2-enal, (E,Z)-2,4-Nonadienal, (Z)-2-Decenal, 1-Octen-3-ol, Tridecane, Geranylacetone, Dodecanal, (E)-2-Octen-1-ol, (E)-2-Octenal, 2-Hexenal, 3,5-Octadien-2-one, (Z)-Hept-2-enal, 3-Undecanone, Hexanal e 2,5-Octanedione.

Essa diferença demonstra a expressão de voláteis importantes para o HF, como o (E,E)-2,4-Nonadienal (gordura de frango), (E,Z)-2,4-Nonadienal (gorduroso, canja de galinha), (E,Z)-2,4-Decadienal (doce, gorduroso e canja de galinha), ressaltando mais uma

vez a importância da degradação lipídica na geração de compostos de aroma. Além do (E,E)-2,4-Decadienal, apontado como composto aromático predominante em caldo de galinha por Feng et. al., (2018).

Figura 2. Mapa de calor dos componentes voláteis do RSO de frango caipira e hidrolisados.



3.7 CARACTERIZAÇÃO DOS FLAVORIZANTES

3.7.1 Cor instrumental: Luminosidade (L^*)

Foi avaliado o parâmetro de cor instrumental de luminosidade (L^*) das amostras de flavorizantes, antes e depois o processamento térmico (autoclavagem) (Tabela 5). Observando os resultados pode-se notar que houve um decréscimo nos valores de L^* (variação do preto ao branco) em ambos os produtos da RM (FG e FX – flavorizantes oriundos da glicose e da xilose, respectivamente). No entanto, o FX apresentou maior intensidade de escurecimento em relação ao FG, o que pode ser justificado pela maior reatividade da pentose (xilose) em relação a hexose (glicose), com maior contribuição no escurecimento (ZOU et al. 2019).

Tabela 5. Valores de luminosidade (L^*) instrumental dos hidrolisados.

Tratamento Térmico	FLAVORIZANTES	
	FG	FX
Antes	72,81±0,51	74,24±0,24
Depois	69,45±0,03	65,17±0,11

3.7.2 Perfil volátil dos flavorizantes de ossos de frango caipira

Setenta e cinco voláteis foram identificados no perfil aromático dos flavorizantes FX e FG (Tabela 6), que foram distribuídos em quatorze (14) classes químicas: aldeídos (36), álcoois (12), cetonas (9), hidrocarbonetos (3), ésteres (3), furanos (3), terpenos (2), aromáticos (1), ácidos (1), pirazinas (1), piridinas (1), componentes sulfurados (1), fenol (1) e amido (1).

Do total identificado, oito compostos são ausentes no FG, demonstrando maior variedade de compostos gerados pelo FX e influência da escolha do açúcar utilizado. Tais

compostos são gerados pela reação do grupo amina com o grupo carbonil do açúcar redutor em questão, durante aplicação do calor. Na sequência são produzidas glicosilaminas que são rearranjadas e desidratadas para formação do furfural, derivados de furanona, hidroxicetonas e compostos dicarbonil, essenciais para determinar o sabor cárneo (RAMALINGAM; SONG; HWANG, 2019).

Durante a RM, o rearranjo de Amadori pode ocorrer entre açúcares aldose e aminoácidos no estágio inicial da reação, constituindo intermediários importantes para os produtos finais na RM. Os produtos do rearranjo podem ser decompostos em α -dicarbonilas com vários comprimentos de cadeia como a 3-desoxihexos-2-ulose, 1-desoxi-2,3-hexodiulose, 2-oxopropanal, butano-2,3-diona e glioxal. As α -dicarbonilas são muito reativas e desencadeiam cascatas de reações adicionais, o que resulta numa mistura complexa de vários produtos da RM, com destaque para os voláteis e pigmentos marrons (HOU et al. 2017). O fenilacetaldeído, composto importante, formado pela degradação de Strecker de fenilalanina, apresentou valor superior no FX com média de 14,32⁵ em comparação ao FG, com apenas 2,51⁵.

Os compostos sulfurados constituem um grupo importante para o sabor de carne, e o principal mecanismo pelos quais são gerados os voláteis contendo enxofre se dá pela formação de sulfeto de hidrogênio a partir do mercapto de glutatona em uma RM (ZOU et al. 2019). Neste estudo apenas o 2-acetiltiazol foi identificado como composto sulfurado, identificado com média superior no FG.

A degradação de vitaminas durante a cocção, oxidação lipídica e o sinergismo entre os produtos oxidados por lipídios, além de produtos da RM, produzem componentes voláteis do sabor característicos da carne cozida. Tais compostos possuem natureza orgânica e possuem baixo peso molecular, variando de acordo com suas estruturas químicas. Dessa forma, os

lipídeos exercem muita influência na produção desses aromas por reduzirem a pressão de vapor da maioria dos compostos de sabor (KHAN; JO; TARIQ, 2015).

A hidrólise de lipídeos origina ácidos graxos livres que quando aquecidos, ambos, ácidos graxos saturados e insaturados sofrem decomposição térmica para a formação de hidroperóxidos que reagem para formação de aldeídos. O hexanal, heptanal, octanal, nonanal e (E,E)-2,4-decadienal são gerados pelo aquecimento de ácidos graxos insaturados (LIU et al. 2019) e para esses compostos o FX exibiu médias superiores em relação ao FG, com exceção apenas para o hexanal. As médias elevadas dos compostos em questão se dão possivelmente pelo alto teor de gordura encontrado nos ossos de frango caipira.

Os aldeídos foram identificados como a principal classe detectada. Do total de 36, apenas 28 constam no FG. O nonanal, já mencionado como composto chave, apresenta-se com médias de 23,93⁵ e 49,78⁵ para o FG e FX, respectivamente. O hexanal, outro composto comum na hidrólise térmica de ácidos graxos, exibiu valor superior para o FG, assim como o benzaldeído.

Tabela 6. Descrição e conteúdo dos compostos voláteis dos flavorizantes

Nr	IRL	Compostos de aroma	Valor de <i>p</i>	Área de pico (x10 ⁵)		Descrição do aroma
				FG	FX	
Ácidos						
1	1373	Decanoic acid	<0,0001	0,24	1,14	Gorduroso
Álcoois						
2	765	1-Pentanol	0,0121	2,31	1,61	Pungente, fermentado, levedura, químico, alcoólico
3	955	2-Heptyn-1-ol	0,9728	0,44	0,44	
4	970	1-Heptanol	0,2844	9,02	9,54	Verde, frutado
5	980	1-Octen-3-ol	0,2794	14,66	13,27	Terroso, verde, vegetal
6	1002	4-Ethylcyclohexanol	0,0207	0,43	0,67	
7	1032	2,4-Dimethylcyclohexanol	0,0011	1,34	0,85	Verde, cítrico, vegetal
8	1067	(E)-2-Octen-1-ol	0,9627	2,75	2,76	
9	1071	1-Octanol	0,2746	16,34	18,09	Ceroso, verde, cítrico, floral
10	1080	1-Nonen-3-ol	0,0513	0,45	0,58	Terroso, verde, cogumelo
11	1173	1-Nonanol	0,0063	0,23	0,41	
12	1273	1-Decanol	0,0809	0,87	1,42	Gorduroso, ceroso, floral, adocicado
13	1277	2-Butyl octanol	0,0013	0,43	1,10	
Aldeídos						
14	699	Pentanal	0,0170	2,76	5,20	Verde, gramíneo, gorduroso
15	800	Hexanal	0,0085	87,63	75,45	
16	854	2-Hexenal	0,3549	0,54	0,44	Verde, frutado, vegetal
17	868	1-Hexanol	0,0010	1,00	0,76	
18	899	Z-4-Heptenal	<0,0001	0,27	0,07	Verde, oleoso, gorduroso, lácteo
19	900	Heptanal	0,4835	11,43	11,97	
20	958	(Z)-Hept-2-enal	0,4120	6,09	5,54	Verde, fresco, gorduroso
21	962	Benzaldehyde	0,0016	40,16	25,50	
22	1003	Octanal	0,0006	28,35	45,87	Aldeídico, ceroso, cítrico

23	1012	(E,E)-2,4-Heptadienal	0,0095	0,63	0,39	Gorduroso, verde, oleoso
24	1045	Phenylacetaldehyde	0,0053	2,51	14,32	Verde, floral, fermentado, terroso
25	1049	(Z)-2-Octenal	0,0059	0,22	0,33	Gorduroso, frutado, nozes, verde
26	1058	(E)-2-Octenal	0,4351	11,06	11,91	Gorduroso, fresco, verde, herbal
27	1104	Nonanal	0,0047	23,93	49,78	Aldeídico, ceroso, cítrico, fresco
28	1115	(E,E)-2,4-Octadienal	0,0925	0,83	0,70	Verde, gorduroso
29	1148	(Z)-Non-2-enal	0,0001	0,19	0,28	Gorduroso, ceroso
30	1162	(E)-2-Nonenal	0,0132	5,05	7,88	Gorduroso, verde, cítrico
31	1164	3-Ethylbenzaldehyde	0,5374	0,54	0,59	
32	1206	Decanal	0,0106	1,32	2,60	Aldeídico, adocicado, cítrico, floral, ceroso
33	1216	(E,E)-2,4-Nonadienal	0,0141	3,66	5,23	Gorduroso, verde, ceroso, gordura de frango
34	1223	β -Cyclocitral		nd	0,49	Tropical, herbal, floral, frutado
35	1252	(Z)-2-Decenal	0,0043	0,25	0,44	Gorduroso
36	1263	(E)-2-Decenal	0,0012	4,41	11,13	Gorduroso, ceroso, terroso, cogumelo, aldeídico
37	1300	(E,Z)-2,4-Decadienal	0,0027	7,20	15,33	
38	1309	Undecanal	0,6128	0,52	0,56	Aldeídico, ceroso, floral, verde
39	1317	(E,E)-2,4-Decadienal	0,0006	38,20	85,89	Gordura de frango, oleoso, cítrico
40	1367	(E)-2-Undecenal	0,0019	3,81	8,32	Frutado, fresco, cítrico, ceroso
41	1378	2-Butyl-2-octenal	0,2300	0,13	0,17	Verde, aguado, metálico, oleoso
42	1409	Dodecanal	0,0013	1,15	2,71	Aldeídico, ceroso, cítrico, floral
43	1435	2,4-Undecadienal		nd	0,35	
44	1448	(Z)-2-Dodecenal		nd	0,23	
45	1476	4-Pentylbenzaldehyde		nd	0,18	
46	1512	Tridecanal		nd	0,24	Aldeídico, fresco, cítrico
47	1613	Tetradecanal		nd	0,19	Ceroso, gorduroso
48	1715	Pentadecanal		nd	0,15	
49	1817	Hexadecanal		nd	0,23	

<i>Aromáticos</i>						
50	763	Toluene	0,1193	1,64	0,56	
<i>Ésteres</i>						
51	1126	Methyl octanoate	0,0133	0,23	0,40	Ceroso, verde, adocicado, aldeídico, herbal, vegetal
52	1180	Allyl heptanoate	0,0021	0,85	1,27	Frutado, adocicado, ceroso
53	1325	Methyl decanoate	0,0009	1,33	0,24	Fermentado, oleoso, frutado
<i>Furanos</i>						
54	791	2-Propylfuran	0,0130	0,15	0,28	
55	993	2-Pentyl-furan	<0,0001	41,95	87,19	Frutado, verde, terroso, vegetal
56	1226	3-Phenylfuran	0,2469	1,40	1,08	
<i>Hidrocarbonetos</i>						
57	1200	Dodecane	0,0374	0,11	0,29	
58	1300	Tridecane	<0,0001	0,56	1,26	
59	1348	5-Methyltridecane	<0,0001	1,90	5,05	
<i>Cetonas</i>						
60	891	2-Heptanone	0,0025	3,73	5,06	Apimentado, frutado, herbal, amadeirado
61	984	2,5-Octanedione	0,0818	4,83	6,38	
62	1031	3-Ethyl-2-methyl-1,3-hexadiene	0,8997	6,27	6,31	
63	1040	3-Octen-2-one	0,0480	11,86	13,31	Terroso, cogumelo, adocicado, oleoso
64	1091	3,5-Octadien-2-one	0,0022	12,47	18,37	Gorduroso, frutado, cogumelo
65	1142	3-Non-3-en-2-one	0,0273	0,90	1,73	Frutado, oleoso, alcaçuz, apimentado
66	1193	2-Decanone	<0,0001	1,92	4,35	Floral, cítrico, gorduroso
67	1283	3-Undecanone	0,0479	0,46	0,73	
68	1491	β-Ionone	0,0014	0,21	0,46	Floral, amadeirado, adocicado

Amida

69	1307	Dibutylformamide	0,1044	0,29	0,35
----	------	------------------	--------	------	------

Fenol

70	1139	2-Ethylphenol	0,0454	0,28	0,53
----	------	---------------	--------	------	------

Pirazinas

71	917	2,6-Dimethylpyrazine	0,0124	0,26	0,12	Chocolate, nozes, assado, carne assada,
----	-----	----------------------	--------	------	------	---

Piridinas

72	1202	2-Pentylpyridine	0,0012	0,30	1,02	Gorduroso, cogumelo, herbal
----	------	------------------	--------	------	------	-----------------------------

Sulfurados

73	1022	2-Acetylthiazole	0,3376	0,18	0,09	Pipoca, nozes, amendoim, avelã
----	------	------------------	--------	------	------	--------------------------------

Terpenos

74	1237	Pulegone	0,0004	0,23	0,53
----	------	----------	--------	------	------

75	1483	α -Curcumene	0,1012	0,10	1,83
----	------	---------------------	--------	------	------

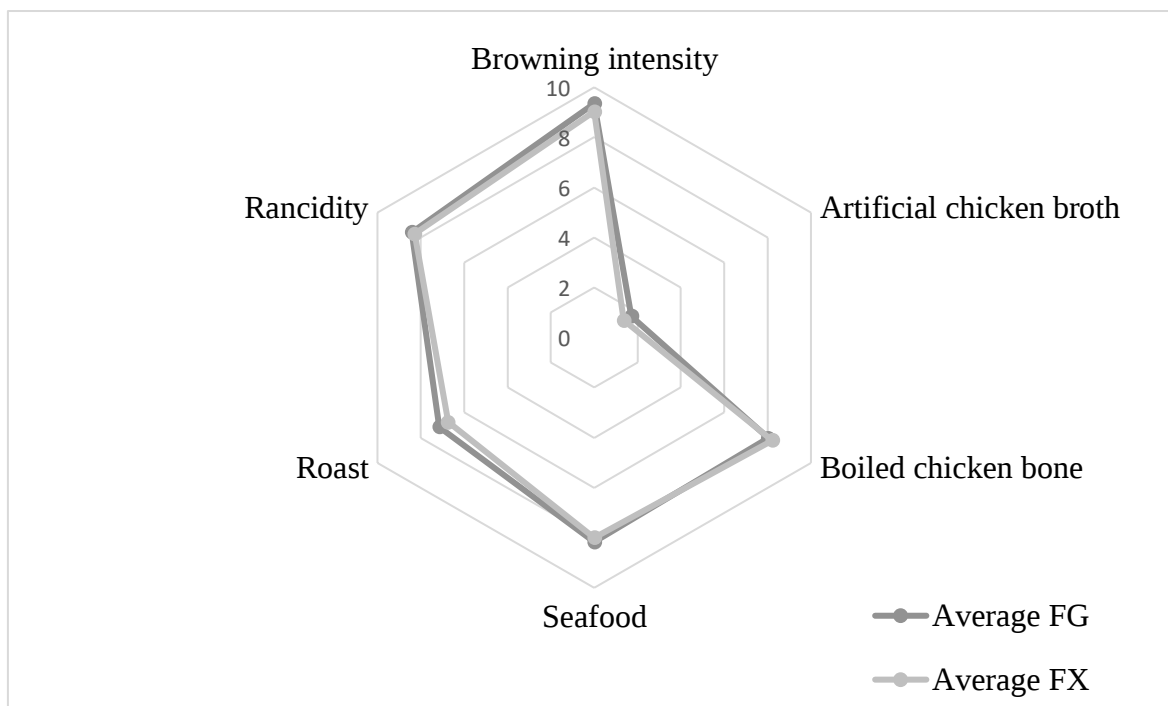
FG – Flavorizante adicionado de glicose; FX – Flavorizante adicionado de xilose; Valores de *p* que apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), pelo Teste T Student.

3.7.3 Análise sensorial dos flavorizantes de ossos de frango caipira

Os resultados da avaliação sensorial dos flavorizantes de ossos de frango caipira estão apresentados na Figura 3. Foram evidenciados seis descritores, distribuídos nos atributos de aparência (intensidade de marrom) e de aroma (frango assado, osso de galinha cozido, caldo de galinha artificial, frutos do mar e ranço).

Entretanto, avaliando os atributos supracitados, o painel sensorial não identificou diferença significativa entre os flavorizantes analisados (Flavorizante com Xilose: FX e Flavorizante com glicose: FG), demonstrando nenhuma diferença perceptível, sensorialmente, nos açúcares (xilose e glicose) utilizados na condição do processo aplicado. Entretanto, pode-se observar na figura que ambos os flavorizantes exibiram cor intensa marrom e atributos aromáticos, como frango assado, osso de galinha cozido, frutos do mar e ranço, de forma mais intensa. O aroma característico destes descritores corrobora ao encontrado no perfil de voláteis das amostras, apresentando os compostos chaves das classes dos aldeídos (maior proporção), álcoois, cetonas, ésteres e pirazina.

Figura 3. Avaliação sensorial dos flavorizantes de ossos de frango caipira.



4 CONCLUSÃO

Mediante as análises empregadas, esse estudo descreve os aromas obtidos pelos processos de hidrólises pela Alcalase, Flavourzyme e mistura, bem como da RM para os flavorizantes de Flavourzyme acrescido de glicose ou xilose. Os resultados experimentais sugerem a Flavourzyme, como melhor alternativa para formação de componentes de sabor, ainda que com o menor GH entre as enzimas testadas e a xilose como açúcar mais interessante para formação de compostos de aroma. Um total de 75 compostos foram identificados pelo FX, enquanto para o FG, apenas 67, dentre os quais foram identificados compostos chaves para o aroma cárneo, possibilitando o uso dos flavorizantes pela indústria de alimentos como base para novos aromas.

REFERÊNCIAS

- ADLER-NISSEN, J. **Enzymic Hydrolysis of Food Proteins**. New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1986.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 18th ed. Gaithersburg, MD, USA, 2010.
- CIE. 1986. *Colorimetry*, 2nd ed. Commission Internationale de L'Eclairage, CIE Publications No 15.2. (Vienna, Austria).
- BEZERRA, T.; ESTÉVEZ, M.; LACERDA, J. T.; DIAS, M.; JULIANO, M.; MENDES, M. A.; MORGANO, M.; PACHECO, M. T.; MADRUGA, M. Chicken combs and wattles as sources of bioactive peptides: Optimization of hydrolysis, identification by LC-ESI-MS2 and bioactivity assessment. **Molecules**, v. 25, n. 7, p. 1698, 2020.
- CHIANG, J. H.; EYRES, G. T.; SILCOCK, P. J.; HARDACRE, A. K.; PARKER, M. E. Changes in the physicochemical properties and flavour compounds of beef bone hydrolysates after Maillard reaction. **Food Research International**, v. 123, n. January, p. 642–649, 2019.
- CORDEIRO, A. R. A.; MEDEIROS, L. L.; BEZERRA, T. K. A.; PACHECO, M. T. B.; GALVÃO, M. S.; MADRUGA, M. S. Effects of thermal processing on the flavor molecules of goat by-product hydrolysates. **Food Research International**. v. 138, p. 109758, 2020.
- DASHDORJ; AMNA; HWANG. Influence of specific taste-active components on meat flavor as affected by intrinsic and extrinsic factors: an overview. **European Food Research and Technology**. v. 241, n. 2, p. 157-171, 2015.
- DONG, X. B.; LI, X.; ZHANG, C. H.; WANG, J. Z.; TANG, C. H.; SUN, H. M.; JIA, W.; LI, Y.; CHEN, L. L. Development of a novel method for hot-pressure extraction of protein from chicken bone and the effect of enzymatic hydrolysis on the extracts. **Food Chemistry**, v. 157, p. 339–346, 2014.
- DONG, Z. Y.; LI, M. Y.; TIAN, G.; ZHANG, T. H.; REN, H.; QUEK, S. Y. Effects of ultrasonic pretreatment on the structure and functionality of chicken bone protein prepared by enzymatic method. **Food Chemistry**, v. 299, n. February, p. 125103, 2019.
- EVARIS, E. F.; FRANCO, L. S.; CASTRO, C. A. S. Meat and bone quality of slow-growing male chickens raised with outdoor access in tropical climate. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 98, p. 103802, 2021.
- FENG, Y. et al. Comparison of aroma-active compounds in broiler broth and native chicken broth by aroma extract dilution analysis (AEDA), odor activity value (OAV) and omission experiment. **Food Chemistry**, v. 265, n. May, p. 274–280, 2018.
- FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G.H. A simple method for the isolation and

purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v.226, n.1, p.497-509, 1957.

FONKWE, L. G.; SINGH, R. K.; Protein recovery from mechanically deboned turkey residue. **Process Biochemistry**, v. 31, p. 605-616, 1996.

HAGEN, S. R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Pre column phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of amino acids in food. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.72, n.6, p.912-916, 1989.

HOU, L.; XIE, J.; ZHAO, J.; ZHAO, M.; FAN, M.; XIAO, Q.; LIANG, J.; CHEN, F. Roles of different initial Maillard intermediates and pathways in meat flavor formation for cysteine-xylose-glycine model reaction systems. **Food Chemistry**, v. 232, p. 135–144, 2017.

KANG, L.; ALIM, A.; SONG, H. Identification and characterization of flavor precursor peptide from beef enzymatic hydrolysate by Maillard reaction. **Journal of Chromatography B journal**. v.1104, p. 176–18, 2019.

KERTH, C. R.; MILLER, R. K. Beef flavor: a review from chemistry to consumer. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 2783-2798, 2015.

KHAN, M. I.; JO, C.; TARIQ, M. R. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors-A systematic review. **Meat Science**, v. 110, p. 278–284, 2015.

LIU, H.; WANG, Z.; ZHANG, D.; SHEN, Q.; HUI, T.; MA, J. Generation of key aroma compounds in Beijing roasted duck induced via Maillard reaction and lipid pyrolysis reaction. **Food Research International**. v. 136, p. 109328, 2020.

MA, X.; ZHAN, P.; TIAN, H.; ZHISHENG, W.; WANG, P. Effects of Different Enzymatic Hydrolyses of Mutton Tallow on the Aroma Characteristics of the Maillard Reaction of Xylose–Cysteine Based on GC-MS, E-Nose, and Statistical Analysis. **European Journal of Lipid Science and Technology**. v. 122, n. 3, p. 1900212, 2020.

MADRUGA, M. S.; ELMORE, J. S.; ORUNA-CANCHA, M. J.; BALAGIANNIS, D.; MOTTRAM, D. S. Determination of some water-soluble aroma precursors in goat meat and their enrolment on flavour profile of goat meat. **Food Chemistry**, v. 123, p.513-520, 2010.

MORA, L.; REIG, M.; TOLDRÁ, F. Bioactive peptides generated from meat industry by-products. **Food Research International**, v. 65, n. PC, p. 344–349, 2014.

MOTTRAM, D. S. Flavour formation in meat and meat a review. **Food Chemistry**, v. 62, n. 4, p. 415-424, 1998.

QUEIROZ, A. L. M.; BEZERRA, T. K. A.; PEREIRA, S. de F.; SILVA, M. E. C.; GADELHA, C. A. de A.; GADELHA, T. S.; PACHECO, M. T. B.; MADRUGA, M. S. Functional protein hydrolysate from goat by-products: Optimization and characterization studies. **Food Bioscience**, v. 20, n. January, p. 19–27, 2017

RAMALINGAM; SONG; HWANG. The potential role of secondary metabolites in modulating the flavor and taste of the meat. **Food Research International journal**. v. 122, p. 174–182, 2019.

SAS Institute. *SAS User's Guide: Statistics*; Version 11.0; SAS Institute: Cary, NC, USA, 2014.

SIMON, C.; D.; MUMM, R.; HALL, R.; D. Mass spectrometry-based metabolomics of volatiles as a new tool for understanding aroma and flavour chemistry in processed food products. **Metabolomics**, v. 15, p. 15-41, 2019.

SUN, H. M.; WANG, J. Z.; ZHANG, C. H.; LI, X.; XU, X.; DONG, X. B.; HU, L.; LI, C. H. Changes of flavor compounds of hydrolyzed chicken bone extracts during maillard reaction. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 12, p. C2415–C2426, 2014.

TOLDRÁ, F.; ARISTOY, M. C.; MORA, L.; REIG, M. Innovations in value-addition of edible meat by-products. **Meat Science**, v. 92, n. 3, p. 290–296, 2012.

TOLDRÁ, F., REIG, M., ARISTOY, M. C., & Mora, L. Generation of bioactive peptides during food processing. **Food Chemistry**, v. 267, p. 395–404, 2018.

WANG, J. Z.; DONG, X. B.; YUE, J. Y.; ZHANG, C. H.; JIA, W.; LI, X. Preparation of Substrate for Flavorant from Chicken Bone Residue with Hot-Pressure Process. **Journal of Food Science**, v. 81, n.3, p. C578-8610, 2016.

WHITE, J. A.; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **Journal of Automatic Chemistry of Clinical Laboratory Automation**, v.8, n.4, p.170-177, 1986.

XU, X.; ZHENG, Y.; SONG, H.; GONG, L.; PAN, W. The effects of enzymatic hydrolysis degree of bovine bone marrow extract on flavor generation via the Maillard reaction. **Journal of Food Measurement and Characterization**. v. 13, p. 521-535, 2019.

ZEPPA, G.; CONTERNO, L.; GERBI, V. Determination of Organic Acids, Sugars, Diacetyl, and Acetoin in Cheese by High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 2722-2726, 2001.

ZHAN, P.; TIAN, H.; ZHANG, X.; WANG, L. Contribution to aroma characteristics of mutton process flavor from the enzymatic hydrolysate of sheep bone protein assessed by descriptive sensory analysis and gas chromatography olfactometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 921–922, p. 1–8, 2013.

ZHAO; C. J.; Andreas Schieber, Michael G. Gänzle. Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations – A review. **Food Research International**. v. 89, p. 39–47, 2016.

ZIDANE, A.; ABABOU, A.; METLEF, S.; NIAR, A.; BOUDEROUA, K. Growth and meat quality of three free-range chickens and commercial broiler under the same breeding conditions. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 40, p. 1–7, 2018.

ZOU, T.; KANG, L.; YANG, C.; SONG, H.; LIU, Y. Flavour precursor peptide from an enzymatic beef hydrolysate Maillard reaction-II: Mechanism of the synthesis of flavour compounds from a sulphur-containing peptide through a Maillard reaction. **Lwt**, v. 110, p. 8-18, 2019.

5 CONCLUSÕES

Mediante as análises empregadas, esse estudo descreve os aromas obtidos pelos processos de hidrólises pela Alcalase, Flavourzyme e sua mistura, bem como da RM para os flavorizantes obtidos com os hidrolisados da Flavourzyme adicionado de glicose ou xilose. Os resultados experimentais sugerem a Flavourzyme, como melhor alternativa para formação de componentes de sabor, ainda que com o menor GH entre as enzimas testadas; a xilose apresentou-se como o açúcar mais interessante para formação de compostos de aroma em comparação com a glicose. A eficiência do processo proteolítico, na liberação de aminoácidos foi essencial, uma vez que os aminoácidos livres presentes não foram encontrados na amostra de RSO de frango caipira (matéria-prima). Os aldeídos foram identificados como a principal classe detectada nos flavorizantes, com 36 compostos. Um total de 75 compostos foram identificados pelo FX, enquanto para o FG, apenas 67, dentre os quais foram identificados compostos chaves para o aroma cárneo, possibilitando o uso dos flavorizantes pela indústria de alimentos como base para novos aromas e avanço entre questões ambientais, além de melhorias nos custos do setor produtivo de frango caipira. Pesquisas futuras são sugeridas no âmbito da potencialização e estabilização dos flavorizantes gerados.

APÊNDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Titulo da pesquisa: “OBTENÇÃO DE HIDROLISADOS PROTEICOS COM POTENCIAL FLAVORIZANTE A PARTIR DE OSSO DE FRANGO CAIPIRA”

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) a participar da pesquisa **“Obtenção de hidrolisados proteicos com potencial flavorizante a partir de osso de frango caipira”**, realizada na **Universidade Federal da Paraíba**. O objetivo da pesquisa é avaliar a aceitação de flavorizantes obtidos através de hidrolisados proteicos do osso de frango caipira, advindos de duas diferentes enzimas proteolíticas (alcalase e Flavourzyme), bem como da mistura destas. A sua participação é muito importante e se dará através de uma análise sensorial, com preenchimento de um questionário em relação ao flavorizante avaliado. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Os benefícios esperados são: ofertar compostos aromáticos de impacto ou precursores, com ampla aplicação em alimentos, de maneira a agregar sensorialmente diferentes produtos, além de proporcionar o melhor aproveitamento do resíduo ósseo proveniente da cadeia produtiva de frangos caipiras, contribuindo com a indústria de alimentos, comunidade acadêmica e com o meio ambiente.

Como risco essa pesquisa pode ocasionar recusa ao responder questionário de análise sensorial por possível constrangimento.

Informamos que o(a) senhor(a) não pagará nem será remunerado por sua participação. Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode nos contactar:

Pesquisador responsável:

Rebeka Correia de Souza Cunha, Rua Aposentada Albertina Cabral Dantas, 183, apt 302 – Cep: 58073-208

– João Pessoa/PB. Telefone: (83) 99668-4725. E-mail: rebekacorreia0@gmail.com

Ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Paraíba, localizado no Centro de Ciências da Saúde - 1º andar, Campus I - Cidade Universitária.

CEP: 58.051-900 - João Pessoa-PB. Telefone:

(83) 3216 7791, e-mail: eticaccsufpb@hotmail.com. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida, assinada e entregue ao(a) senhor(a). Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura da Testemunha

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

João Pessoa/PB, 23 de setembro de 2021.

*Termo de Consentimento Livre Esclarecido apresentado, atendendo, conforme normas da Resolução 466/2012 de 12 de dezembro de 2012.

ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA

Nome: _____ Data: / / R1

Por favor, avalie as amostras codificadas da esquerda para direita e avalie a intensidade presente em cada uma das amostras. **Instruções:** Faça um traço vertical na linha horizontal que melhor descreva cada atributo.

COR

Intensidade do marrom	
	Fraco Moderado Forte

Por favor, CHEIRE as amostras codificadas da esquerda para direita e avalie a intensidade das notas aromáticas presente em cada uma das amostras. **Instruções:** Faça um traço vertical na linha horizontal que melhor descreva cada atributo.

AROMA

Caldo de galinha artificial	
	Fraco Moderado Forte
Osso de galinha cozido	
	Fraco Moderado Forte
Frutos do mar	
	Fraco Moderado Forte
Assado	
	Fraco Moderado Forte
Ranço	
	Fraco Moderado Forte

Nome: _____ **Data:** / /

Produto: Hidrolisado proteico de ossos de frango caipira adicionado de glicose ou xilose, “cozido” em autoclave.

ATRIBUTO	DEFINIÇÃO	REFERÊNCIA
----------	-----------	------------

Aparência		
Intensidade do marrom	Paleta de cores em tons de marrom.	Fraco: B69E81 Forte: 90724F
Aroma		
Caldo de galinha (artificial)	Associado a tempero sabor galinha.	Nenhum Forte: caldo para macarrão instantâneo de galinha da marca Nissin. Um sachê de 5g em 750 mL de água.
Osso de galinha cozido	Semelhante a canja de galinha.	Nenhum Forte: caldo de ossos de coxa e sobrecoxa de frango, cozidos na pressão e triturados. 118,5g de ossos para 500 ml de água.
Frutos do mar	Aroma adocicado, próprio dos frutos do mar.	Fraco: Caldo de camarão com cascas e sal – 95 mL da diluição do forte, acrescida de 380 mL de água. Forte: Caldo do camarão com cascas e sal – 125g de camarão para 190 mL de água.
Assado	Referente ao frango assado.	Nenhum Forte: Filé de peito de frango assado em grelha – sem temperos e sem sal.
Ranço	Oxidação lipídica.	Fraco: Óleo de soja levemente oxidado. Forte: Óleo de soja altamente oxidado.
SUGESTÕES		

