

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ALEXIA FRANCIELLI SCHUCH

**EFEITO DO ULTRASSOM DE ALTA POTÊNCIA SOBRE A
QUALIDADE DO MÚSCULO *BICEPS FEMORIS* DE BOVINOS DA
RAÇA NELORE**

DISSERTAÇÃO

MEDIANEIRA

2017

ALEXIA FRANCIELLI SCHUCH

**EFEITO DO ULTRASSOM DE ALTA POTÊNCIA SOBRE A
QUALIDADE DO MÚSCULO *BICEPS FEMORIS* DE BOVINOS DA
RAÇA NELORE**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cristiane Canan

Co-Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Denise Pastore de Lima

MEDIANEIRA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

S384e Schuch, Alexia Francielli

Efeito do ultrassom de alta potência sobre a qualidade do músculo bíceps femoris de bovinos da raça nelore/Alexia FrancielliSchuch– 2017.

54f.:il.; 30 cm.

Orientadora: Cristiane Canan

Coorientadora: Denise Pastore de Lima

Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Medianeira, 2017.

Inclui bibliografias.

1.Cavitação. 2.Enzimas proteolíticas 3.Cisalhamento 4. Alimentos – Dissertações. I.Canan, Cristiane, orient. II.Lima,Denise Pastore de, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. IV. Título.

CDD: 664



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos

PPGTA UTFPR
Programa de Pós-Graduação
em Tecnologia de Alimentos

TERMO DE APROVAÇÃO

Efeito do ultrassom de alta potência sobre a qualidade do músculo *Biceps femoris* de bovinos da raça Nelore

Por

ALEXIA FRANCIELLI SCHUCH

Essa dissertação foi apresentada às quinze horas e quarenta e cinco minutos, do dia vinte e nove de maio de dois mil e dezessete, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos, Linha de Pesquisa Ciência e Tecnologia de Produtos Alimentícios, no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos - PPGTA, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Profa. Dra. Cristiane Canan (Orientadora - PPGTA)

Profa. Dra. Marines Paula Corso (Membro Externo – UTFPR)

Profa. Dra. Gislaine Silveira Simões (Membro Externo – IFPR- Foz do Iguaçu)

A via original com as assinaturas encontra-se na secretaria do programa.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Cristiane Canan pela orientação, pelos conhecimentos científicos e pelo incentivo nos momentos difíceis.

À Profa. Dra. Denise Pastore de Lima pela co-orientação e apoio durante o estudo.

À Rosana Aparecida da Silva Buzanello pela ajuda e amizade durante todo o período de execução deste estudo.

À Fundação Araucária pela bolsa concedida durante o período do estudo.

À Fernanda Colombari pelo fornecimento da matéria-prima utilizada no estudo.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos pelos conhecimentos científicos transmitidos.

À Profa. Dra. Marines Paula Corso pelo contado com docência por meio do estágio na disciplina por ela ministra e auxílios durante a execução deste estudo.

Aos Professores Alex Sanches Torquato e Éder Lisandro de Moraes Flores pelo auxílio nas análises espectrométricas.

Aos alunos de iniciação científica que ajudaram durante as análises.

Às alunas do Mestrado em Tecnologia de Alimentos pelos momentos companheirismo que tivemos durante esse período.

À minha família pelo apoio e compreensão durante esse tempo de dedicação aos estudos.

RESUMO GERAL

SCHUCH, Alexia Francielli. Efeito do ultrassom de alta potência sobre a qualidade do músculo *Biceps femoris* de bovinos da raça Nelore. 2017. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2017.

A maciez é um dos atributos mais exigidos pelos consumidores com relação à carne bovina. Assim, técnicas de amaciamento aplicadas em cortes cárneos de baixa maciez possibilitam agregar valor de forma direta à estes cortes. A aplicação do ultrassom, uma tecnologia emergente, tem sido uma alternativa proposta para o aumento da maciez em cortes cárneos de maciez reduzida, como é o caso do músculo *Biceps femoris*. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do ultrassom sobre a qualidade do músculo *Biceps femoris* de bovinos da raça Nelore utilizando o banho ultrassônico por meio da metodologia de superfície de resposta. Um delineamento composto central rotacional (DCCR) 2^2 com triplicata no ponto central (11 ensaios) foi utilizado para a aplicação do ultrassom no músculo *Biceps femoris* 24 h *post-mortem*. A potência (x_1) e o tempo de ultrassom (x_2) foram as variáveis independentes. As variáveis dependentes (\hat{y}) foram a medida instrumental de força de cisalhamento (FC), perda de peso por exsudação, pH, cor (L^* , a^* e b^*) e capacidade de retenção de água (CRA). A redução da medida instrumental de FC foi utilizada como parâmetro para identificação da condição ótima. As amostras submetidas ao tratamento ultrassônico na condição ótima foram comparada às amostras controle quanto a oxidação lipídica (TBARS), teor de cálcio sarcoplasmático, índice de fragmentação miofibrilar e perfil de ácidos graxos. Todas as determinações analíticas foram realizadas 24, 72 e 144 h após o tratamento. No DCCR, o termo linear de x_2 foi estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$) para redução dos valores de FC nas amostras do músculo *Biceps femoris*. A metodologia de superfície de resposta possibilitou observar que a aplicação de ultrassom com potência de $22,6 \text{ W cm}^{-2}$ e tempo de 120 s resultou no menor valor de FC, sendo esta a condição ótima. Os resultados de pH, cor (L^* , a^* e b^*), CRA, perda de peso por exsudação e TBARS das amostras tratadas na condição ótima não diferiram ($p > 0,05$) das amostras controle. Estes resultados apontaram que a aplicação de ultrassom não afetou a oxidação lipídica da carne, mesmo após 144 h. Amostras tratadas apresentaram maior teor de cálcio sarcoplasmático ($p \leq 0,05$) do que as controle. Contudo, o IFM—medida indireta da atividade proteolítica do sistema calpaína— não diferiu ($p > 0,05$) entre as amostras tratadas e controle, sugerindo que a redução da FC seja oriunda de modificações do colágeno e não da degradação de proteínas da linha z. No perfil de ácidos graxos, 24 h após aplicação do ultrassom, as somatórias dos ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados foram superiores ($p \leq 0,05$) nas amostras tratadas do que nas controle, e o inverso foi observado para a somatória de ácidos graxos saturados. Estes resultados demonstram que a aplicação de ultrassom contribuiu para a ruptura da membrana celular fosfolipídica e consequente liberação de ácidos graxos insaturados. A aplicação do ultrassom não afetou negativamente os parâmetros de qualidade da carne bovina e contribuiu para a melhoria da maciez com redução de 24% na FC em relação à amostra controle.

Palavras-chave: Cavitação. Enzimas proteolíticas. Força de cisalhamento. Delineamento composto central rotacional. Banho de ultrassom.

ABSTRACT

SCHUCH, Alexia Francielli. High power ultrasound effects on quality of *Biceps femoris* from Nelore bovine. 2017. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2017.

In relation to beef, tenderness is one of the most required attributes by consumers. Therefore, tenderness techniques applied in low tenderness meat cuts allow to aggregate value of the directly to these cuts. Ultrasound treatment, an emergent technology, has been an alternative proposed to tenderness increase in low tenderness meat cuts, as *Biceps femoris* bovine muscle. In this research, the aim was to evaluate the ultrasound effects on quality of *Biceps femoris* muscle from Nelore bovines using ultrasound-bath by response surface methodology (RSM). A central composite rotational design (CCRD) 2^2 with triplicate in central point (11 assays) was used to ultrasound treatment in *Biceps femoris* 24 h *post-mortem*. Ultrasound power (x_1) and time (x_2) were the independents variables. Dependents variables (\hat{y}) were Warner-Bratzler shear-force (SF), water loss, pH, color (L^* , a^* and b^*), and water holding capacity (WHC). SF decrease was used as parameter to identify the optimum condition. Samples sonicated in optimum condition were compared with control samples by analysis of lipid oxidation (TBARS), sarcoplasmic calcium content, myofibril fragmentation index (MFI), and fatty acid profile. All analytical determinations were performed in 24, 72 and 144 h after ultrasound treatment. In CCRD, x_2 linear term was significant statistically ($p \leq 0.05$) to SF decrease in *Biceps femoris* bovine muscle. RSM allowed noting that ultrasound application with 22.6 w cm^{-2} ultrasound power and 120 s resulted in lower SF value, characterized as optimum experimental condition. The results of pH, color (L^* , a^* and b^*), WHC, water loss and TBARS in sonicated samples in optimum condition were not different ($p > 0.05$) of control samples. These results pointed that ultrasound treatment did not affect lipid oxidation of beef until 144 h. Sonicated samples exhibited higher sarcoplasmic calcium content ($p \leq 0.05$) than control. However, MFI—indirect measure of calpain proteolytic activity— was not different ($p > 0.05$) between sonicated samples and control. This result suggests that SF decrease could have been result from collagen changes and did not from z-line protein degradation. In fatty acid profile, the sums of monounsaturated fatty acids and polyunsaturated fatty acids were higher ($p \leq 0.05$) in sonicated samples than control, and the inverse was observed to saturated fatty acids sum. These results demonstrated that ultrasound treatment contributed to phospholipid cellular membrane rupture and consequent release of unsaturated fatty acids. Ultrasound treatment did not affect negatively the beef quality parameters and contributed to tenderness increase as 24% of SF decrease in relation to control samples.

Keywords: Cavitation. Proteolytic enzymes. Shear force. Central composite rotational design. Ultrasound-bath.

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1 – Estudos que relatam o uso de ultrassom no amaciamento de carne bovina <i>in natura</i> | 20 |
| TABELA 2 – Matriz dos ensaios do delineamento composto central rotacional 2 ² com as variáveis independentes..... | 27 |
| TABELA 3 – Matriz dos ensaios do DCCR 2 ² com as variáveis independentes e resposta experimental força de cisalhamento (Y) do músculo <i>Biceps femoris</i> nos tempos de armazenamento de 24 h, 72 h e 144h..... | 34 |
| TABELA 4 – Coeficientes de regressão para a resposta Y= força de cisalhamento (N) do músculo <i>Biceps femoris</i> após 144 h de armazenamento. | 34 |
| TABELA 5 – ANOVA do modelo composto central rotacional para predição da força de cisalhamento do músculo <i>Biceps femoris</i> 144 h após o tratamento com ultrassom. | 34 |
| TABELA 6 – Resultados obtidos para o músculo <i>Biceps femoris</i> submetido ao ultrassom (intensidade de 22,60 Wcm ⁻² e tempo de 120 s) para as análises de pH, medida instrumental de cor, CRA e perda de peso por exsudação. | 37 |
| TABELA 7 –Valores médios e desvio padrão das análises teor de cálcio sarcoplasmático e IMF para o músculo <i>Biceps femoris</i> | 40 |
| TABELA 8 – Composição total de ácidos graxos (ácidos graxos principais expressos como percentagem de ácidos graxos totais) para o músculo <i>Biceps femoris</i> bovino da raça Nelore. | 44 |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 2 OBJETIVOS | 12 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 12 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 12 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 13 |
| 3.1 PRINCÍPIOS DO ULTRASSOM..... | 13 |
| 3.2 EFEITO DO ULTRASSOM NA MACIEZ DA CARNE..... | 15 |
| 3.3 ALTERAÇÕES DECORRENTES DA APLICAÇÃO DE ULTRASSOM | 22 |
| 3.3.1 Alterações de cor..... | 22 |
| 3.3.2 Oxidação lipídica e off-flavors | 23 |
| 3.3.3 Alterações estruturais da proteína | 24 |
| 3.3.4 Redução da carga microbiana | 25 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS | 26 |
| 4.1 PREPARO DA AMOSTRA..... | 26 |
| 4.2 APLICAÇÃO DO ULTRASSOM..... | 26 |
| 4.3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA APLICAÇÃO DE ULTRASSOM | 27 |
| 4.4 pH E MEDIDA INSTRUMENTAL DE COR | 28 |
| 4.5 CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA | 29 |
| 4.6 PERDA DE PESO POR EXSUDAÇÃO | 29 |
| 4.7 FORÇA DE CISALHAMENTO | 29 |
| 4.8 VALIDAÇÃO DO MODELO PROPOSTO | 30 |
| 4.9 ANÁLISE DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS..... | 30 |
| 4.10 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CÁLCIO SARCOPLASMÁTICO..... | 31 |
| 4.11 MEDIDA DE OXIDAÇÃO LIPÍDICA | 31 |
| 4.12 ÍNDICE DE FRAGMENTAÇÃO MIOFIBRILAR..... | 32 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 33 |
| 5.1 AVALIAÇÃO DO MÚSCULO <i>BICEPS FEMORIS</i> SUBMETIDO AO ULTRASSOM | 33 |
| 5.2 DEMAIS DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS | 39 |
| 6 CONCLUSÃO..... | 46 |
| REFERÊNCIAS..... | 47 |

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um grande produtor de carne bovina e esta atividade representa grande parte do setor agroindustrial. O Valor Bruto da Produção de carne foi de R\$ 51,1 bilhões em 2014 (HEATH-BROWN; ALVAREZ; AUJLA, 2016). No ano de 2015, o Brasil foi o maior produtor mundial e o segundo maior exportador de carne bovina, ficando atrás apenas da Índia, o que o torna um fornecedor de grande relevância de carne e derivados dessa espécie animal para diversos países (USDA, 2016).

A carne vermelha é considerada um alimento nobre para o homem pela qualidade das proteínas e pela variedade de nutrientes essenciais como vitaminas, minerais e principalmente, ácidos graxos essenciais (MCDONNELL et al., 2014). Entretanto, no momento da compra, a maciez é um dos principais atributos exigidos pelos consumidores (ISTRATI, 2008; KARUMENDU et al., 2009), mas muitas vezes as expectativas não são atendidas, pois a maciez é influenciada por inúmeros fatores, desde a raça, aspectos genéticos, idade, sexo e os manejos pré e pós-abate (JEREMIAH, 1996). Em alguns países como a China, Japão e EUA a aceitabilidade da carne bovina cresce com o aumento do marmoreio (MAO et al., 2016) que está diretamente relacionado à maior maciez da carne.

A qualidade é um fator primordial, o que pode ser percebido nos consumidores que vêm assumindo uma nova atitude no momento de compra, exigindo melhor qualidade e variedade de produtos. Para o consumidor, a textura é o fator mais importante para caracterizar a qualidade da carne (SMITH et al., 1991; ALARCÓN-ROJO et al., 2015).

A maciez apresentada pela carne está relacionada a diferentes fatores, sendo eles decorrentes da composição da carne como o teor de tecido conjuntivo, gordura entremeada, componentes protéicos miofibrilares e seu o grau de contração miofibrilar, localização do músculo na carcaça e método de cozimento (LAWRIE; LEDWARD, 2006). Melhorar a maciez do músculo *Biceps femoris* é em particular, um grande desafio devido ao seu alto teor de tecido conjuntivo (PIETRASIK; SHAND, 2010).

O amaciamento de cortes cárneos com baixa maciez é uma alternativa para agregar valor de forma direta a estes cortes que apresentam baixa qualidade, além de contribuir para o desenvolvimento de produtos que satisfaçam novos consumidores, e conseqüentemente contribuir para a sustentabilidade da cadeia produtiva da carne bovina (ALMLI et al., 2013).

No Brasil, a base genética utilizada para a produção de carne bovina é oriunda de animais com grande contribuição de genótipos zebuínos, que afetam negativamente a maciez pelo fato destes animais apresentarem baixo escore de marmoreio. Desta forma, alternativas que contribuam para o melhoramento da maciez da carne são muito importantes. Diferentes métodos vêm sendo estudados visando a melhoria da textura da carne, como a injeção de cloreto de cálcio (PAZOS et al., 2002), suspensão pelo tendão de aquiles ou suspensão da carcaça pelo osso pélvico durante o resfriamento (AHNSTRÖM et al., 2012), estimulação elétrica utilizada nas carcaças antes do resfriamento pós-abate, uso de enzimas proteolíticas, utilização de alta pressão (SIKES et al., 2014), aplicação de ondas ultrassônicas (STADNIK; DOLATOWSKI, 2011; SIKES et al., 2014; CHANG et al., 2015) e uso combinado de ondas ultrassônicas e enzimas (BAREKAT; SOLTANIZADEH, 2017).

O ultrassom é uma tecnologia emergente que tem sido aplicada no processamento de alimentos (KNORR et al., 2011; AWAD et al., 2012; ALARCÓN-ROJO et al., 2015). Nos últimos anos o seu uso vem ganhando espaço na tecnologia de alimentos, e principalmente muitos estudos têm focado sua aplicação em carnes *in natura* e produtos processados, com o objetivo de aumentar a capacidade de retenção de água, acelerar a maturação, melhorar a palatabilidade de cortes não nobres, diminuir gastos de energia durante o cozimento associado à melhoria da maciez, aumentar a absorção de salmoura em produtos marinados com melhoria da maciez e rendimento, e ainda, contribuir para formação de pequenos cristais de gelo durante o congelamento, e consequente menor perda de exsudado durante o descongelamento (ALARCÓN-ROJO et al., 2015).

As formas de atuação do ultrassom no aumento da maciez da carne podem ser pela indução da ruptura da membrana celular pelo enfraquecimento físico da estrutura muscular, e como consequência a carne torna-se mais macia (DOLATOWSKI; STADNIK; STASIAK, 2007) ou, pela ativação da proteólise pela libertação das catepsinas a partir de lisossomos e dos íons Ca^{2+} de reservas intracelulares de modo a ativar as calpaínas (LYNG; ALLEN; MCKENNA, 1998; JAYASOORIYA et al., 2004, JAYASOORIYA et al., 2007).

Apesar de inúmeros resultados satisfatórios, o uso do ultrassom é praticamente inexistente na indústria cárnea. São necessários estudos para o desenvolvimento de tecnologias de aplicação eficientes e seguras, sem o uso de produtos impróprios para o consumo humano, sem a destruição ou contaminação do meio ambiente e que possam ser aplicadas em escala industrial (GALLEGO-JUÁREZ et al., 2010; AWAD et al., 2012). Para isso, devem ser consideradas no desenvolvimento de sistemas de ultrassom as características dos cortes cárneos, como o tamanho, peso e propriedades físico-químicas e funcionais, para

permitir a obtenção de produtos de qualidade e em condições otimizadas (KNORR et al., 2011; AWAD et al., 2012).

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de ultrassom sobre a qualidade dos músculos *Biceps femoris* de bovinos da raça Nelore.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência do ultrassom sobre a qualidade do músculo *Biceps femoris* bovino da raça Nelore.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar ultrassom em diferentes potências e tempos no músculo *Biceps femoris* de bovinos da raça nelore;
- Avaliar a influencia do ultrassom sobre a medida instrumental de força de cisalhamento, pH, exsudação, cor e capacidade de retenção de água;
- Avaliar o efeito do ultrassom sobre a qualidade da carne pelo índice de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), índice de fragmentação miofibrilar, teor de cálcio sarcoplasmático e perfil de ácidos graxos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PRINCÍPIOS DO ULTRASSOM

O uso do ultrassom na indústria alimentícia está relacionado às mudanças físicas, químicas, funcionais ou microbiológicas que podem ocorrer nos alimentos devido a sua aplicação, acompanhadas pelo aumento da produtividade, rendimento e/ou melhoria da qualidade, bem como garantir a segurança alimentar. Outros aspectos importantes a destacar, são o fato de ser uma tecnologia limpa, rápida, não invasiva, não destrutiva e precisa (DOLATOWSKI; STADNIK; STASIAK, 2007; GAMBUTEANU; FILIMON; ALEXE, 2013; ARVANITTOYANNIS; KOTSAPOULOS; SAVVA, 2015).

As ondas ultrassônicas podem ser classificadas em ondas de alta frequência (2-20 MHz) e baixa intensidade ($<1 \text{ W cm}^{-2}$) e sem capacidade destrutiva, utilizadas em análises de imagens não invasivas, sensores e análises de composição, dispersão ou concentração de partículas em fluidos (LEADLEY; WILLIAMS, 2008; ALVES et al., 2013) e ondas de baixa frequência (20-100 kHz) e alta potência ($10\text{-}1000 \text{ W cm}^{-2}$) que permitem devido aos níveis de potência elevados, romper enlaces intermoleculares devido ao efeito de cavitação provocado por esta energia, que possibilita modificações nas propriedades físicas e reações químicas (PIYASENA; MOHAREB; MCKELLAR, 2003).

A cavitação ocorre quando há regiões de mudança de pressão no meio provocando a formação de bolhas de gás, as quais podem implodir ou não. As bolhas aumentam a difusão dos gases no meio, que vão se expandindo, promovendo alternância entre ondas de compressão (pressão positiva) e rarefação (pressão negativa) (PIYASENA; MOHAREB; MCKELLAR, 2003; CÁRCEL et al., 2007). No caso da cavitação estável, a oscilação compressão/rarefação é regular e as bolhas induzem a microagitação no líquido sem implodir. Na cavitação instável ou transiente, essas bolhas oscilam entre os estados de compressão/rarefação até ocorrer a sua implosão. Neste momento, a energia de ultrassom fornecida faz com que as bolhas se expandam o máximo possível até perderem sua capacidade de expansão e não mais reterem os gases (PIYASENA; MOHAREB; MCKELLAR, 2003), gerando altas temperaturas, pressões e forças de cisalhamento localizadas e produção de microjatos que apresentam energia suficiente para exercer efeitos

mecânicos, como desintegrar células, químicos ou bioquímicos, como desnaturar enzimas e modificar propriedades físico-químicas e melhorar a qualidade durante o processamento (SUSLICK, 1989; PIYASENA; MOHAREB; MCKELLAR, 2003; CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; CÁRCEL et al., 2012).

As reações que empregam a cavitação apresentam tempo menor de reação, aumento de rendimento, uso de condições menos drásticas de processamento, como menor temperatura e pressão e ainda, maior seletividade de produtos de reações (MCCLEMENTS, 1995). A cavitação pode ser classificada de diferentes formas, de acordo com o modo de geração, sendo acústica, hidrodinâmica, óptica e de partículas (GOGATE, 2008). No entanto, as cavitações acústicas e hidrodinâmicas são as únicas que apresentam potencial com intensidades capazes de provocar alterações físicas e químicas nos alimentos (MCCLEMENTS, 1995). Os efeitos químicos provocados pela cavitação ocorrem a partir do fenômeno acústico de cavitação, ou seja, a formação e crescimento seguido do colapso implosivo de bolhas de gás no meio, que liberam grandes quantidades de energia (temperatura e pressão).

O ultrassom ao passar pelo meio líquido provoca vibração e ocorre a formação de *streaming* acústico que são micro aspersões de líquido. Este fenômeno provoca a movimentação do meio, fazendo com que determinados compostos sejam carregados para diferentes pontos do líquido, ou seja, há o aumento da taxa de reações de transporte de massa devido à geração de turbulência local e micro-circulação de líquido (ASHOKKUMAR, 2011; GOGATE, 2011). Durante o crescimento e o colapso das bolhas de cavitação ocorre o aumento das forças de turbulência, cisalhamento e ondas de choque, esses efeitos podem ser aplicados no processamento de alimentos, como na extração e emulsificação de substâncias (MASON, 1990). No caso das transformações ocorridas em alimentos, os efeitos são em geral positivos e podem ser aplicados para promover maior qualidade e segurança (SUSLICK, 1989; ALARCON-ROJO et al., 2015).

A forma de aplicação do ultrassom também influencia no desempenho da cavitação. Os equipamentos geradores de ondas de ultrassom são os banhos de sonificação (aplicação indireta) e as sondas de imersão (aplicação direta), os quais podem apresentar diferentes tamanhos, diâmetros e geometrias de ponta, de acordo com a necessidade de aplicação. Na aplicação indireta são usados banho de ultrassons, onde a onda ultrassônica primeiramente atravessa o líquido contido no interior do equipamento para posteriormente, atravessar a parede do recipiente da amostra. Portanto, a intensidade do ultrassom no interior do recipiente da amostra é menor do que o esperado. Sua desvantagem é que os banhos não são dispositivos tão poderosos e suas aplicações ficam limitadas pela falta de intensidade ultrassônica

(SANTOS; LODEIRO; CAPELO-MARTÍNEZ, 2009; JAMBRAK et al., 2014). No caso da aplicação direta, algumas desvantagens foram relatadas, como por exemplo, a contaminação da amostra com metais desprendidos da sonda/*probe* e a perda de elementos voláteis onde a aplicação da sonda ocorreu em processo aberto sem a devida proteção da amostra (SANTOS; LODEIRO; CAPELO-MARTÍNEZ, 2009). Por outro lado, quando a sonda de ultrassom é utilizada, devido a sua ação direta há maior intensidade cavitacional, o que pode ou não ser benéfico dependendo do alimento (JAMBRAK et al., 2014).

3.2 EFEITO DO ULTRASSOM NA MACIEZ DA CARNE

A palatabilidade da carne depende de parâmetros de qualidade como o aroma, sabor, aparência, suculência e maciez. A importância destes parâmetros varia dependendo do produto e destino final. Entretanto, para o consumidor, a maciez é considerada o principal atributo no momento da compra (ISTRATI, 2008; KARUMENDU et al., 2009). A textura da carne é influenciada por diversos fatores como marmoreio, quantidade de tecido conjuntivo, capacidade de retenção de água e o grau de maturação (ALARCÓN-ROJO et al., 2015). Entretanto, alguns destes fatores muitas vezes são difíceis de serem controlados porque dependem da raça dos bovinos, cruzamentos genéticos, sistema de criação (pasto ou confinamento), idade e sexo (JEREMIAH, 1996).

A maturação ou resolução do *rigor mortis* compreende as mudanças posteriores ao desenvolvimento da rigidez cadavérica, nesta etapa ocorre o relaxamento lento do músculo, provocando o aumento da maciez da carne após 3 a 4 dias de armazenamento sob refrigeração (ORDÓÑEZ et al., 2007). Este efeito não se deve à dissociação da actomiosina formada durante a instauração do *rigor mortis*, mas sim à ação de diversas enzimas endógenas à carne, sendo as principais, as catepsinas e as calpaínas ou proteinases neutras ativadas pelo cálcio (CAF). A ação proteolítica em pontos estratégicos da estrutura da linha Z e dos filamentos finos e grossos provoca perda da integridade das miofibrilas. Aparentemente, apesar das proteínas do tecido conjuntivo não sofrerem proteólise, rompem-se determinadas ligações cruzadas das moléculas de colágeno, possivelmente devido à ação de enzimas lisossômicas (KARUMENDU et al., 2009).

Somente a partir da maturação não é possível obter a maciez desejada ou a qualidade esperada da carne, sendo assim, métodos de amaciamento mecânicos, enzimáticos e/ou

químicos são alternativas usadas para melhorar a palatabilidade de cortes cárneos que não apresentam boa aceitação pelo consumidor (ALARCÓN-ROJO et al., 2015). Como uma técnica inovadora, o ultrassom vem se destacando no amaciamento de carnes, apesar de estudos de sua aplicação com esta finalidade terem se iniciado à décadas, como o realizado por Smith et al. (1991) e somente nos últimos anos é que esta tecnologia tem recebido maior atenção (TURANTAŞ; KILIÇ; KILIÇ, 2015). Os parâmetros acústicos (frequência, intensidade, duração do tratamento, temperatura) determinam a extensão do resultado desejado obtido a partir da sonicação (STADNIK; DOLATOWSKI, 2011).

Os efeitos físicos, mecânicos ou químicos das ondas ultrassônicas de alta energia são capazes de alterar determinadas propriedades, como causar a ruptura física e acelerar reações químicas (JAYASOORIYA et al., 2007). O ultrassom tem a capacidade de induzir de forma direta à ruptura da membrana celular pelo enfraquecimento físico da estrutura muscular, e como consequência a carne pode apresentar maior maciez (DOLATOWSKI; STADNIK; STASIAK, 2007; ARVANITOYANNIS; KOTSANOPOULOS; SAVVA, 2015). Outra forma seria pela ativação da proteólise pela libertação das catepsinas a partir de lisossomos e dos íons Ca^{2+} de reservas intracelulares de modo a ativar as calpaínas (LYNG; ALLEN; MCKENNA, 1998; JAYASOORIYA et al., 2004, 2007). As calpaínas podem também ter sua atividade intensificada pelo aumento do pH das amostras tratadas com ultrassom quando comparadas a amostras controle (JAYASOORIYA et al., 2007).

Nos primeiros estudos como já citado, Smith et al. (1991) avaliaram amostras do músculo *Semitendinosus* de bovinos cortadas no sentido transversal ou longitudinal das fibras musculares, as quais foram expostas ao ultrassom por 2, 4 e 8 min e 2, 4, 8 ou 16 min, respectivamente a frequência de 25,9 kHz, em banho de ultrassom. Logo após o tratamento as amostras foram pesadas e cozidas até temperatura interna de 75 °C e analisadas em seguida. Os resultados indicaram menor força de cisalhamento para as amostras de ambos os cortes nos tempos 2 e 4 min de exposição, enquanto houve um aumento significativo da força de cisalhamento quando comparado ao controle (sem ultrassom) para as amostras que foram submetidas a 8 min ou mais de ultrassom. Os autores não realizaram outras medidas que pudesse contribuir para justificar o ocorrido com as amostras submetidas ao maior tempo de ultrassom. Pohlman, Dikeman e Zayas (1997) também utilizaram em seus experimentos tempos de exposição ao ultrassom superior a 8 min, porém em um primeiro experimento as amostras de músculo *Semitendinosus* após o tratamento (20 kHz e 1,55 W cm⁻²) foram armazenadas a 3 °C por 4 dias e posteriormente, cozidas até temperatura interna de 70 °C e comparadas ao controle (sem ultrassom). Em um segundo experimento, as amostras do

mesmo tipo de músculo foram submetidas às mesmas condições de frequência, potência e tempo, porém foram retiradas do banho de ultrassom quando a água atingiu a temperatura de 70 °C e posteriormente, foram cozidas em forno de convecção a temperatura interna de 70 °C. Em ambos os experimentos foi avaliada a força de cisalhamento. Neste estudo os tempos de aplicação do ultrassom foram superiores a 8 min, desta forma os resultados obtidos foram semelhantes aos obtidos por Smith et al. (1991), ou seja, não houve aumento da maciez nos dois experimentos realizados e não houve diferença significativa quando comparados a amostra controle. Os autores sugeriram que a alta potência poderia induzir a geleificação do colágeno contribuindo para o aumento da força de cisalhamento.

O efeito do ultrassom sob a maciez do músculo *Pectoralis* foi avaliado por Pohlman, Dikeman e Kropf (1997), a aplicação se deu 24 h *post mortem* e utilizaram a frequência de 20 kHz, e uma potência muito superior que os estudos anteriores, 22 W cm⁻², por 5 ou 10 min, a 4 °C. Após o tratamento, a carne foi mantida sob refrigeração a 2 °C e analisada 1, 6 e 10 dias após o tratamento, os autores observaram uma tendência para a redução da força de cisalhamento ao longo do período de armazenamento.

Um dos primeiros estudos que utilizaram uma sonda de ultrassom ao invés do banho foi realizado por Lyng, Allen e Mckenna (1998) que compararam a ação do ultrassom na qualidade do músculo *Longissimus thoracis et lumborum*, desossado a quente (2 h após o abate) e desossado a frio (24 h após o abate). Os cortes foram submetidos a frequência de 20 kHz e intensidade de 63 W cm⁻² por períodos de 15 s (em média, 10 aplicações por corte), de modo que toda a superfície fosse submetida à sonicação. Posteriormente, as amostras foram analisadas durante a maturação no período de 1 a 14 dias e não foram encontradas diferenças significativas entre as amostras submetidas ao ultrassom e a amostra controle (sem tratamento) para as análises de medida de força de cisalhamento, características sensoriais, solubilidade do colágeno e proteólise miofibrilar. Got et al. (1999) também avaliaram o efeito do ultrassom com o objetivo de acelerar a maturação e aumentar a maciez de músculos *Semimembranosus* uma sonda de ultrassom, porém com intensidade inferior (10 W cm⁻²), contudo a frequência utilizada foi de 2,6 MHz. Oito carcaças bovinas de animais com idade entre 5 a 9 anos foram estimuladas eletricamente 1 h após o abate e a aplicação do ultrassom se deu na fase de pré-rigor (dia 0, pH 6,2) em dois períodos de 15 s com intervalo de 120 s ou no pós-rigor (dia 1, pH 5,4). Nos cortes submetidos ao ultrassom na fase de pré-rigor ocorreu um breve atraso do início do *rigor mortis*, alongamento do sarcômero (12 a 15%), alterações na linha Z e aumento do cálcio intracelular (aproximadamente 30%), entretanto os autores afirmaram que não ocorreu nenhum efeito sobre a maciez da carne. Nos cortes submetidos ao

ultrassom na fase pós-rigor não foram observadas mudanças estruturais, porém ocorreu ligeira melhora do índice de maturação após 6 dias, entretanto, aos 14 dias esse efeito não foi mais observado. O fato de terem sido observadas apenas alterações em cortes submetidos à aplicação de ultrassom na fase de pré-rigor, se deve ao fato de que antes da resolução do *rigor mortis* o ultrassom pode contribuir para a maior liberação de cálcio e maior atividade das catepsinas.

Outro estudo utilizando sonda de ultrassom foi realizado por Jayasooriya et al. (2007) para avaliar a ação do ultrassom em músculos *Longissimus semitendinosus* de bovinos com 3 a 4 anos de idade. Foram utilizadas frequência de 24 kHz e intensidade de 12 W cm^{-2} , com duração de 0, 30, 60, 120 e 240 s a temperatura ambiente o que resultou no aumento da temperatura da carne em 15-30 °C. Posteriormente, as amostras foram maturadas por até 8,5 dias a 5 °C antes da avaliação da força de cisalhamento. O ultrassom reduziu a força de cisalhamento da carne quando aplicado por 60 s ou mais. No decorrer do armazenamento e maturação o benefício obtido pelo tratamento com ultrassom diminuiu. A avaliação de parâmetros de qualidade indicou que houve redução da força de cisalhamento, sem afetar o pH, cor, perda de peso por cozimento e por exsudação.

No estudo de Stadnik, Dolatowski e Baranowska (2008) utilizaram banho de ultrassom (45 kHz, 2 W cm^{-2} , 120 s, 4 °C) para aplicação de ultrassom em músculo *Semimembranosus*. O tratamento foi realizado 24 h *post mortem* e o ultrassom aplicado perpendicularmente às fibras musculares durante 120 s sendo os cortes armazenados a 4 °C durante 4 dias. Os resultados demonstraram que a aplicação do ultrassom aumentou, significativamente, a capacidade de retenção de água das amostras nos tempos de 72 e 96 h após o tratamento em relação ao controle, tornando-a típica de carne em estágio avançado de *post mortem*, o que poderia contribuir para a menor força de cisalhamento. Neste estudo, o adiantamento da maturação da carne ocorreu sem prejuízos aos outros parâmetros de qualidade, como pH e cor. Estes resultados foram contrários aos obtidos por Got et al. (1999), que observaram atraso do *rigor mortis*. Em outro estudo realizado por Stadnik e Dolatowski (2011), o ultrassom foi aplicado nas mesmas condições que Stadnik, Dolatowski e Baranowska (2008) e os resultados demonstraram que a baixa frequência reduziu a força de cisalhamento nos tempos 48 e 72 h *postmortem*. Nas condições em que este estudo foi realizado, os resultados reforçam a hipótese de que o ultrassom é capaz de acelerar o processo de maturação dos cortes cárneos por acelerar a proteólise e induzir o aumento da maciez, seguida da fragmentação das estruturas proteicas celulares.

Chang et al. (2015) avaliaram os efeitos do ultrassom a baixa frequência e alta intensidade (40 kHz, 1500 W) por 10, 20, 30, 40, 50 e 60 min na qualidade de músculos *Semitendinosus*. As amostras embaladas a vácuo foram submetidas ao ultrassom em banho ultrassônico a 20 °C. Os autores relataram que o tratamento com ultrassom por ≥ 10 min ocasionou o rompimento das células musculares, encolhimento dos sarcômeros, aumento do espaço extracelular, aumento das cavidades intracelulares, rompimento do endomísio e diminuição da espessura do perimísio. Ocorreu formação de agregados de proteínas no espaço extracelular e arranjos das fibras de colágeno desorganizados. Os resultados sugerem que as alterações nas propriedades do tecido conjuntivo podem contribuir para a diminuição da força de cisalhamento ocasionada pelo ultrassom.

Em estudo recente, com o objetivo de desenvolver um novo processo para melhorar a textura do músculo *Longissimus lumborum*, Barekat e Soltanzadeh (2017) selecionaram 3 músculos de 5 bovinos de 2,5 anos, cujo pH após 12 h *post-mortem* foi de 5,5-5,8. As amostras foram tratadas com ultrassom tanto na presença como na ausência de 0,1% de solução de enzima de papaína, para isso, amostras imersas em água destilada foram submetidas apenas ao ultrassom sem a papaína, e amostras foram submetidas ao ultrassom e papaína. Os dois grupos de amostras foram incubadas a 65 °C por 30 min, devido a temperatura ótima da papaína que é de 65-80 °C. Os autores observaram redução da força de cisalhamento em ambos tratamentos, e proporcional ao tempo de aplicação do ultrassom e que a combinação do ultrassom e o uso da papaína pode ser empregado como uma ferramenta útil para a melhoria da maciez da carne. Sendo estes resultados uma alternativa para melhoria da maciez do músculo *Longissimus lumborum*, uma vez que submetido ao ultrassom a alta frequência (600 kHz, 48 kPa, 65 kPa, 10 min) por Sikes et al. (2014) não houve melhoria da maciez, e os autores sugeriram que novas condições de tratamento deveriam ser estudadas.

Na tabela 1 há um resumo de alguns trabalhos citados nesta revisão, procurou-se citar o preparo da amostra uma vez que amostras maiores ou mais espessas podem impedir o ultrassom de atingir o interior da carne, tornando o tratamento menos eficaz e contribuindo para resultados contraditórios (LEE et al., 2011).

TABELA 1 – Estudos que relatam o uso de ultrassom no amaciamento de carne bovina *in natura*.

(continua)

| Autor | Tamanho das amostras | Condições de aplicação do ultrassom | Resultados negativos | Resultados positivos * |
|---------------------------------|---|--|---|--|
| Smith et al. (1991) | <i>Semitendinosus</i> 10,0 x 5,0 x 2,54 cm, com aproximadamente 200 g cortadas no sentido longitudinal ou transversal as fibras musculares | Banho de ultrassom, 10 °C, 25,9 kHz, exposição ao ultrassom por 2, 4 e 8 min (corte longitudinal) e 2, 4, 8 ou 16 min (corte transversal) | Amostras tratadas por 8 e 16 min obtiveram maior força de cisalhamento que o controle | Amostras tratadas por 2 e 4 min de ultrassom apresentaram menor força de cisalhamento que o controle |
| Pohlman, Dikeman e Zayas (1997) | <i>Semitendinosus</i> 1) 6,4 x 2,5 x 70,2 cm 2) 2,5 x 5,1 x 10,2 cm | 1) banho de ultrassom, 20 kHz, 1,55 W cm ⁻² , 8, 16 e 24 min, armazenado a 3 °C por 4 dias e cozidas a 70 °C 2) banho de ultrassom, 20 kHz, 1,55 W cm ⁻² , 8, 16 e 24 min a 70 °C, e cozidas posteriormente até temperatura interna a 70 °C | Não houve efeito significativo na diminuição da força de cisalhamento em nenhum dos tratamentos | Exsudação e perda de água pelo cozimento não foram significativos |
| Pohlman, Dikeman e Kropf (1997) | <i>Pectoralis</i> 1) 8,0 x 8,0 x 2,5 cm 2) 8,0 x 8,0 x 1,3 cm | 1) banho de ultrassom, 20 kHz, 22 W cm ⁻² , 5 ou 10 min, armazenado a 2 °C e cozimento a 70 °C 2) banho de ultrassom, frequência de 20 kHz, 22 W cm ⁻² , 5 ou 10 min a 70 °C, cozimento após a aplicação do ultrassom até temperatura interna a 70 °C | Diminuição da cor vermelha viva da carne | Tendência para redução da força de cisalhamento ao longo do armazenamento a 2 °C ao longo de 10 dias e exsudação e perda de água após cozimento não foram significativos |
| Lyng, Allen e Mckenna (1998) | <i>Longissimus thoracis et lumborum</i> Cortes de 2,5 cm de espessura | Sonda de ultrassom, 20 kHz, 63 W cm ⁻² , repetições de 15 s até atingir toda a superfície da amostra | Não houve efeito significativo na diminuição da força de cisalhamento entre as amostras sonificadas e controle nos tempos 1, 3 e 14 dias de armazenamento | Não houve alterações sensoriais entre as amostras sonificadas e a controle |
| Got et al. (1999) | <i>Semimembranosus</i> Tamanho das amostras não descrito | Sonda ultrassônica, 2,6 MHz; 10 W cm ⁻² ; 2 x 15 s | Não houve diminuição da força de cisalhamento quando o ultrassom foi aplicado músculo em pré-rigor | Quando o ultrassom foi aplicado no pós-rigor houve leve diminuição da força de cisalhamento após 6 dias de armazenamento |

TABELA 1 – Estudos que relatam o uso de ultrassom no amaciamento de carne bovina in natura.

(conclusão)

| Autor | Tamanho das amostras | Condições de aplicação do ultrassom | Fatores negativos | Resultados positivos * |
|---|--|--|--|---|
| Jayasooriya et al. (2007) | <i>Longissimus lumborum et thoracis</i> e <i>Semitendinosus</i> 6,0 x 4,0 x 2,0 cm com aproximadamente 50 g | Sonda ultrassônica, 24 kHz, 12 W cm ⁻² , tempo máximo de aplicação de 240 s | Ao longo do período de armazenamento o efeito do ultrassom sob a maciez diminui em comparação ao controle | Todas as amostras sonificadas por 60 s ou mais apresentaram redução da força de cisalhamento em relação ao controle no tempo 0 e 1 dia |
| Stadnik, Dolatowski e Baranowska (2008) | <i>Semimembranosus</i> 7,0 x 7,0 x 8,0 aproximadamente 400 g | Banho de ultrassom, 45 kHz, 2 W cm ⁻² , 120 s | Não descrito | Redução da força de cisalhamento pelo ultrassom quando aplicado transversalmente às fibras musculares. Adiantamento do <i>rigor mortis</i> . |
| Stadnik e Dolatowski (2011) | <i>Semimembranosus</i> 7,0 x 7,0 x 8,0 cm com aproximadamente 400 g | Banho de ultrassom, 45 kHz, 2 W cm ⁻² por 120 s, 4 ± 1 °C | As amostras sonificadas apresentaram cor ligeiramente menos estável que o controle, mas sem prejuízo de qualidade | No tempo de armazenamento de 48 e 72 h a força de cisalhamento foi significativamente inferior ao controle |
| Chang et al. (2012) | <i>Semimembranosus</i> 2,5 x 5,0 x 5,0 cm, com aproximadamente 100 g | Banho de ultrassom, 40 kHz e 1500 W por 10, 20, 30, 40, 50 e 60 min a 20 °C | Diminuição da atividade da β-galactosidase e β-glucuronidase quando aplicado ultrassom por 10 min quando comparado ao controle | Ocorreram modificações estruturais do colágeno e na textura da carne, sendo que a força de cisalhamento foi menor quando aplicado ultrassom por 10, 20 e 30 min |
| Sikes et al. (2014) | <i>Longissimus lumborum</i> Cortes de 2,5 cm de espessura | Banho de ultrassom, 600 kHz a 48 kPa e 65 kPa | Não apresentou diferença significativa entre a amostra controle e a sonificada | Não descrito |
| Chang et al. (2015) | <i>Semimembranosus</i> 2,5 x 5,0 x 5,0 cm, aproximadamente 100 g | Banho de ultrassom, 40 kHz, 1500 W por 10, 20, 30, 40, 50 ou 60 min | Aumento de exsudado | Tempo ≥10 mins de ultrassom resultou no menor valor de fora de cisalhamento |
| Barekat e Soltanizadeh (2017) | <i>Longissimus lumborum</i> 3 x 3 x 3 cm | Sonda ultrassônica, 20 kHz, 100 W e 300 W por 10, 20 e 30 min | Não descrito | Menor força de cisalhamento foi obtida quando houve a combinação da papaína com o ultrassom a 100 W por 20 min |

Fonte: A autora (2017).

* Resultados comparados a amostra controle (sem tratamento com ultrassom).

Como apresentado na Tabela 1, os autores utilizaram diferentes condições de aplicação, destacando-se os trabalhos de Got et al. (1999) e Sikes et al. (2014) que utilizaram elevadas frequências de ultrassom (2,6 MHz e 600 kHz) e observaram a não redução da força de cisalhamento em relação aos seus controles nem mesmo ao longo do armazenamento, isto pode ter sido ocasionado por danos causados pelas ondas ultrassônicas às enzimas catepsinas e as calpaínas ou proteinases neutras ativadas pelo cálcio (CAF), como sugerido por Got et al. (1999), ao invés de ocorrer ativação da proteólise pela libertação das catepsinas a partir de lisossomos e dos íons Ca^{2+} de reservas intracelulares e na sequencia ativação das calpaínas (LYNG; ALLEN; MCKENNA, 1998, JAYASOORIYA et al., 2004, 2007) ou a elevada frequência utilizada pode ter ocasionado danos à carne gerando excessiva perda da capacidade de retenção de água. Jayasooriya et al. (2007) relataram que os melhores resultados de redução da dureza foram obtidos com o uso de frequência entre 20 kHz a 45 kHz.

3.3 ALTERAÇÕES DECORRENTES DA APLICAÇÃO DE ULTRASSOM

A aplicação de ultrassom em carnes com o objetivo de aumentar a maciez pode ocasionar outras modificações que podem ser desejáveis ou não e por se tratar de uma tecnologia emergente muitos resultados ainda são contraditórios, entretanto, alguns estudos indicam que o uso de ultrassom dependendo das condições de aplicação pode promover em carnes a alteração da cor, oxidação lipídica, ocorrência de *off-flavors*, degradação de compostos minoritários e alterações estruturais das proteínas (PINGRET; FABIANO-TIXIER; CHEMAT, 2013).

3.3.1 Alterações de cor

Jayasooriya et al. (2007) e Stadnik e Dolatowski (2011) observaram que os parâmetros de cor L^* (luminosidade), a^* (verde-vermelho) e b^* (amarelo-azul) não foram afetados pelo tratamento de ultrassom. Porém, Chang et al. (2012) não observaram efeito do ultrassom sobre L^* e a^* , mas o parâmetro b^* foi significativamente menor que o controle, quando exposto por 30 min ao ultrassom. Esse efeito foi atribuído à alta frequência utilizada (45 kHz),

especialmente quando comparada à frequência testada por Jayasooriya et al. (2007) (24 kHz). No estudo de Pohlman, Dikeman e Zayas (1997), ao usar banho de ultrassom com parâmetros acústicos de 20 kHz, 1,55 W cm⁻² e exposição por 8, 16 ou 24 min em músculo bovino *Semitendinosus* e *Biceps femoris*, não houve efeito do ultrassom sobre os parâmetros L*, a* ou b*. Porém, ao manter a frequência de 20 kHz e aumentar a intensidade para 22 W cm⁻² com tempos de 5 ou 10 min em músculo *Pectoralis*, foi observado maior valor do parâmetro L*, menor intensidade de a* e maior intensidade de b*, embora não se tenha percebido diferença entre os tempos de 5 e de 10 min, ou seja, o ultrassom afetou os parâmetros de cor, independente do tempo de exposição utilizado (POHLMAN; DIKEMAN; KROPF, 1997). Em estudo realizado por Caraveo et al. (2015) o ultrassom foi aplicado utilizando um banho de ultrassom, frequência de 40 kHz, intensidade de 11 W cm⁻² por 60 e 90 min em cortes de 1,27 cm de espessura do músculo *Semitendinosus*, com o intuito de avaliar o efeito sobre a flora microbiana. Os autores observaram que a aplicação do ultrassom por 60 ou 90 min inicialmente aumentou o valor do parâmetro L* e diminuiu o valor do parâmetro a*, mas não foi observada diferença entre as amostras tratadas e controle após 8 dias de armazenamento, entretanto a carne tratada com ultrassom por 90 min apresentou maior valor do parâmetro b* durante todo o período de armazenamento.

3.3.2 Oxidação lipídica e off-flavors

A geração de radicais livres, produção de peróxido de hidrogênio, entre outros pode ser desencadeada pelo efeito químico da cavitação, os quais são devido ao aumento localizado da temperatura e pressão, ondas de choque e *microstreaming*, acarretando alterações físicas e químicas importantes para a qualidade dos alimentos tratados com ultrassom. (LEE et al., 2011). Outro possível problema do uso do ultrassom é a degradação de compostos nutricionais, bem como a produção de *off-flavors* causados pela oxidação lipídica e/ou protéica. As moléculas de água durante a cavitação podem ser quebradas formando radicais livres, intensificando as reações químicas, que ocorrem no líquido (CAVALIERI et al., 2008). As altas temperaturas e pressões provocadas durante o colapso das bolhas de gás são capazes de provocar a formação de radicais hidroxil (OH•) e átomos de hidrogênio são gerados a partir da dissociação das moléculas de água em soluções aquosas (RIESZ; KONDO, 1992). Estudos têm demonstrado que estes radicais livres altamente reativos juntamente com os demais

produtos de degradação podem induzir a reações em cadeia nos alimentos (PINGRET; FABIANO-TIXIER; CHEMAT, 2013). No estudo de Kang et al. (2016) para avaliar o efeito do ultrassom sobre a oxidação lipídica e estrutura da carne bovina durante a salga com 6% NaCl o ultrassom foi aplicado em diferentes intensidades (2,39, 6,23, 11,32 e 20,96 W cm⁻²), tempos (30, 60, 90 e 120 min) e frequência de 20 kHz. Foi possível concluir que o valor de TBARS aumentou com o maior tempo de exposição e intensidade do ultrassom.

3.3.3 Alterações estruturais da proteína

Alterações provocadas pelo ultrassom de alta intensidade podem vir a causar modificações nas propriedades reológicas e de solubilidade das proteínas (ZHANG et al., 2017). Gülseren et al. (2007) reportaram alterações estruturais seguidas de alterações funcionais de albuminas bovinas séricas (BSA), as quais são devidas ao efeito mecânico, térmico e/ou químico causados pelo ultrassom. O ultrassom promove alterações nos grupos sulfidrilo livres, tamanho de partícula, hidrofobicidade superficial e estrutura secundária, como resultado pode causar o aumento da mobilidade intramolecular e da atividade superficial (GÜLSEREN et al., 2007; HU et al., 2013; XIONG et al., 2016). Zhang et al. (2017) relataram aumento da solubilidade das proteínas com o uso do ultrassom ao avaliarem as propriedades físico-químicas de géis de proteína miofibrilar, usando frequência de 20 kHz e potência de 200 a 1000 W, com duração de 15 min (na forma de pulsos), com intensidades de 88, 117, 150, 173 e 193 W cm⁻², isso pode ser devido a mudanças na estrutura das proteínas pelo desdobramento molecular das proteínas, expondo os grupos hidrofóbicos e regiões do interior das moléculas, ou seja, a superfície da proteína se torna mais polar e ainda, danos nas ligações de hidrogênio e ligações hidrofóbicas, resultando em uma maior interação entre a água e a proteína (ARZENI et al., 2012; MAITY; RASALE; DAS, 2012; ZHANG et al., 2017). As alterações da estrutura α -hélice e folha β são maiores quanto mais intensas as condições utilizadas de ultrassom, como por exemplo, tempos longos e intensidades altas. Para as intensidades de 2,39 e 6,23 W cm⁻² foram necessário 60 min de ultrassom para apresentar diferença significativa no conteúdo de α -hélice e folha β entre a amostra sonificada e o controle, com a diminuição de α -hélice e aumento de folha β (KANG et al., 2016).

3.3.4 *Redução da carga microbiana*

O ultrassom tem sido estudado para a descontaminação de produtos, em especial produtos cárneos que apresentam alta contaminação microbiológica. A inibição microbiana é atribuída principalmente à geração de cavitação intracelular que pode causar o afinamento das membranas celulares, o aquecimento e a produção de radicais livres (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; TURANTAŞ; KILIÇ; KILIÇ, 2015). A redução de flora microbiana de carnes foi investigada por Pohlman, Dikeman e Zayas (1997), e não foi observada diferença significativa ao longo de 30 dias de armazenamento, com exceção do tempo zero onde houve redução da carga microbiana. Neste caso, o ultrassom atuou na redução em um primeiro momento, mas a carga microbiana elevada fez com que a diferença significativa desaparecesse após cinco dias de armazenamento. Em estudo realizado por Caraveo et al. (2015) a aplicação de ultrassom diminuiu significativamente as bactérias coliformes, mesófilos e psicrófilos durante o período de armazenamento, sendo que o tratamento com ultrassom por 90 min foi responsável pela maior redução.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PREPARO DA AMOSTRA

As amostras utilizadas neste experimento foram obtidas dos músculos bovinos *Biceps femoris* (coxão duro) de aproximadamente 5,5 kg, obtidos de meia carcaça direita de 4 bovinos da raça Nelore, com idade de 24 meses (450 a 550 kg), abatidos de acordo com normas e procedimentos oficiais (BRASIL, 1997; BRASIL, 2000). As amostras foram coletadas do músculo *Biceps femoris* 24 h post-mortem, em triplicata, e foram padronizadas em todos os ensaios quanto à altura x largura x comprimento (2 x 5 x 6 cm) e peso (aproximadamente 60 g). Em seguida, foi realizada a medida de pH e as amostras de cada ensaio foram embaladas a vácuo (Microvac CV8, marca Selovac) em sacos de polietileno e armazenadas entre 0 a 2 °C por 1 h para estabilização da temperatura para posterior aplicação do ultrassom.

4.2 APLICAÇÃO DO ULTRASSOM

As amostras foram sonicadas em um banho de ultrassom (Elmasonic P 120H, Singen, Alemanha) de acordo com o planejamento experimental descrito no item 4.3. As amostras foram acondicionadas no banho de ultrassom de modo que a maior área superficial ficasse sempre voltada para o fundo do banho, sendo ainda, o tempo proposto para cada ensaio dividido igualmente para cada lado do corte, a fim de que a sonicação fosse aplicada uniformemente à amostra. Durante a aplicação do ultrassom, a temperatura do banho foi mantida em 10 °C com adição de gelo/água gelada, quando necessário. Uma amostra controle (sem aplicação do ultrassom) do músculo de *Biceps femoris* foi utilizada para comparação dos resultados.

4.3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA APLICAÇÃO DE ULTRASSOM

Para a aplicação do ultrassom de alta potência no músculo *Biceps femoris* foi utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) 2^2 com triplicata no ponto central, totalizando 11 ensaios que foram realizados aleatoriamente. As variáveis independentes: (x_1) intensidade de ultrassom e (x_2) tempo de aplicação estão apresentados na Tabela 02. As variáveis dependentes ou respostas experimentais (\hat{y}) avaliadas foram pH, medida instrumental de cor, capacidade de retenção de água (CRA), perda de peso por exsudação e força de cisalhamento. O DCCR foi realizado em triplicata, sendo um bovino para cada DCCR. A frequência foi fixada em 80 kHz, a qual juntamente com as variáveis independentes e os níveis de variação foram selecionados previamente com base na literatura (CHANG et al., 2015) e testes preliminares.

Para análise de regressão e variância e superfície de resposta foi utilizado o software STATISTICA 10.0 (STATSOFT INC, TULSA, USA). A fórmula geral do modelo de superfície de resposta foi expressa conforme a Equação 1.

TABELA 2 – Matriz dos ensaios do delineamento composto central rotacional 2^2 com as variáveis independentes.

| Ensaio | Variáveis | |
|--------|---------------------------|------------------------|
| | Potência ($W\ cm^{-2}$) | Tempo de ultrassom (s) |
| | x_1 | x_2 |
| 1 | -1 (15,07) | -1 (60) |
| 2 | -1 (15,07) | +1 (180) |
| 3 | +1 (30,13) | -1 (60) |
| 4 | +1 (30,13) | +1 (180) |
| 5 | $-\alpha$ (11,30) | 0(120) |
| 6 | $+\alpha$ (33,90) | 0(120) |
| 7 | 0(22,60) | $-\alpha$ (35,15) |
| 8 | 0(22,60) | $+\alpha$ (204,85) |
| 9 | 0(22,60) | 0(120) |
| 10 | 0(22,60) | 0(120) |
| 11 | 0(22,60) | 0(120) |

Fonte: A autora (2017).

$$\hat{y}(x_1, x_2) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{1,2} x_1 x_2 + \beta_1 x_1^2 + \beta_2 x_2^2 + e(x_1, x_2) \quad (1)$$

Em que:

\hat{y} = função-resposta

x_1 e x_2 = variáveis codificadas

β 's = coeficientes estimados pelo modelo de superfície de resposta

e = resíduo (erro experimental)

As amostras foram armazenadas entre 0 a 2 °C e analisadas 24 h após aplicação do ultrassom ou 2 dias post-mortem (T1), 72 h após aplicação do ultrassom ou 4 dias post-mortem (T2) e 144 h após aplicação do ultrassom ou 7 dias post-mortem (T3). As análises de pH, medida instrumental de cor, CRA, perda de peso por exsudação foram feitas em triplicata, com exceção da força de cisalhamento, que foi realizada em quintuplicata.

4.4 pH E MEDIDA INSTRUMENTAL DE COR

As análises de pH foram realizadas utilizando potenciômetro de contato (Hanna, modelo HI 99163, Portugal) diretamente na parte dorsal dos cortes do músculo *Biceps femoris*. Para a medida instrumental de cor, foi utilizado o colorímetro Minolta® CR400, com esfera de integração e ângulo de visão de 45°, ou seja, iluminação d/45 e iluminante D e os valores de luminosidade L^* , a^* (componente vermelho-verde) e b^* (componente amarelo-azul) foram expressos no sistema de cor CIELAB. As medidas de cor foram realizadas na superfície das amostras, tomando três pontos diferentes de leitura por amostra.

4.5 CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA

Para a CRA utilizou-se a metodologia descrita por Hamm (1961). Amostras cortadas na forma de cubos e com aproximadamente 2 g foram colocadas entre dois papéis de filtro, e prensadas por 5 min por um peso de 10 kg e posteriormente pesadas novamente. A CRA foi calculada conforme Equação 2.

$$\% \text{ CRA} = 100\% - [(\textit{peso inicial} - \textit{peso final}) / \textit{peso inicial}] \times 100 \quad (2)$$

4.6 PERDA DE PESO POR EXSUDAÇÃO

Foi determinada pela razão obtida entre os pesos das porções dos músculos antes de serem embalados a vácuo e após a sua retirada da embalagem nos 3 tempos já descritos de armazenamento após o tratamento com ultrassom. Os resultados foram expressos em porcentagem.

4.7 FORÇA DE CISALHAMENTO

Para a análise instrumental de textura as amostras foram cozidas em forno elétrico convencional até temperatura interna de 80 °C. A maciez das amostras foi mensurada pela força de cisalhamento, utilizando um Texturômetro Universal TATX-2i, equipado com lâmina Warner Bratzler. As amostras foram cortadas (1 × 1 × 2 cm) no sentido longitudinal das fibras musculares, enquanto que o corte com a lâmina de Warner Bratzler foi realizado no sentido transversal das fibras musculares. Os resultados foram expressos pela força mínima em Newton (N) necessária para o corte das amostras. A célula de carga utilizada foi de 100 kg.

4.8 VALIDAÇÃO DO MODELO PROPOSTO

Para validar o modelo matemático obtido pela análise de superfície de resposta, o músculo *Biceps femoris* foi coletado e as amostras foram preparadas em triplicata, submetidas ao tratamento por ultrassom correspondente à condição otimizada pelo planejamento DCCR, em função da melhoria da maciez da carne. As amostras tratadas foram comparadas à amostras controle (sem tratamento) sendo realizadas as determinações analíticas descritas do item 5.2.4 ao 5.2.7. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão da média (DPM) e comparados ao ensaio controle utilizando teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

4.9 ANÁLISE DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos foram extraídos do músculo *Biceps femoris* pelo método de Bligh e Dyer (1959) e quantificados por cromatografia gasosa (Clarus 680 CG, PerkinElmer) com detector de ionização em chama e coluna capilar de sílica fundida (100 m x 0,25 mm) com 0,25 μm de cianopropilpolisiloxano CP 7420. Hélio foi utilizado como gás de arraste (1,1 mL min^{-1}) e hidrogênio e ar sintético foram utilizados como gases de chama (40 e 400 mL min^{-1} , respectivamente). A temperatura da coluna foi programada em: 80 °C por 1 min; 20 °C min^{-1} até 160 °C; 1 °C min^{-1} até 198 °C, 5 °C min^{-1} até 250 °C e mantido por 1,6 min. Um split 1:100 foi utilizado e o detector e o injetor foram mantidos a 250 °C e 240 °C, respectivamente. A identificação dos ácidos graxos foi baseada em padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma, USA). A área dos picos foi determinada por integrador acoplado (CG-300, Scientific Instruments) ao cromatógrafo gasoso. Os resultados foram expressos como percentagens relativas dos ácidos graxos identificados.

4.10 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CÁLCIO SARCOPLASMÁTICO

O cálcio sarcoplasmático foi determinado de acordo com a metodologia de Cheah et al. (1984) e modificada por Cheah et al. (1986). Amostras de 10 g do músculo *Biceps femoris* foram homogeneizadas com 25 mL de KCl 150 mMol L⁻¹, centrifugadas a 4000 rpm por 4 min a 5 °C (Hitachi, modelo CR 21). O resíduo foi descartado e o sobrenadante novamente centrifugado a 26000 g por 4 min a 5 °C (). Em seguida, foram transferidas alíquotas de 1,0 mL do sobrenadante para tubos de ensaio e adicionado 4,0 mL de solução de lantânio 0,5%. A leitura foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica (Varian, modelo AA240FS) a 422,7 nm. Para o padrão foi utilizado carbonato de cálcio 2 ppm.

4.11 MEDIDA DE OXIDAÇÃO LIPÍDICA

A oxidação lipídica foi determinada segundo o método de Tarladgis, Pearson e Dugan Jr. (1964) e modificações de Crackel et al. (1988) pelo índice de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico). Amostras de 10 g de carnes foram hidrolizadas em 98 mL de água destilada, 2,5 mL de ácido clorídrico 4 Mol L⁻¹ e 2 gotas de antiespumante (8 partes de Span 80 + 1,3 partes de Tween 20) e destiladas por 10 min. O destilado foi homogeneizado e alíquotas de 5 mL foram transferidas para um tubo de ensaio com 5 mL de solução de TBA 0,02 Mol L⁻¹ e aquecidos a 85 °C em banho-maria por 35 min. A leitura foi realizada a 530 nm em espectrofotômetro UV - Visível (Espectrofotômetro UV-Vis, Perkin-Elmer). Para a curva padrão foi preparada uma solução de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) em água deionizada nas concentrações de 0,004 a 1,0 Mol L⁻¹ de TEP. Os resultados em triplicata foram expressos em mg de TBARS/kg de amostra.

4.12 ÍNDICE DE FRAGMENTAÇÃO MIOFIBRILAR

O índice de fragmentação miofibrilar (IFM) foi realizado pelo método de Hopkins, Littlefield e Thompson (2000) com algumas modificações. Para a extração foram pesados 4 g de músculo congelado e transferidos para um béquer contendo 20 mL de solução tampão (pH 7,0), composta de 100 mMol.L⁻¹ de cloreto de potássio, 20 mMol.L⁻¹ de fosfato de potássio, 1 mMol.L⁻¹ de cloreto de magnésio e 1 mMol.L⁻¹ de azida sódica. O conteúdo do béquer foi homogeneizado por 1,5 min em agitador mecânico a 5000 rpm, após a homogeneização o líquido permaneceu em repouso 30 s e, então, foi homogeneizado novamente por 1,5 min a 5000 rpm. Para este procedimento a amostra foi mantida a 2 °C. Posteriormente, a amostra foi centrifugada a 6000 rpm por 25 min a 2 °C. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro e reservado, onde foi mantido em um recipiente com gelo. Ao precipitado foi adicionado 20 mL de solução tampão e homogeneizado em vórtex por 1 minuto, centrifugado novamente a 6000 rpm por 25 min a 2 °C, filtrado e reservado. 10 mL de solução tampão foram adicionados ao precipitado e homogeneizados em vórtex, o sobrenadante foi filtrado e reservado. Os filtrados foram misturados obtendo o volume final da solução de miofibrilas. No ensaio protéico foram transferidas alíquotas de 0,25 mL para tubos de ensaio e adicionado 0,75 mL de solução tampão. Em seguida, foi adicionado 4 mL de reagente Biureto, homogeneizado em vórtex e deixado em ambiente escuro por 30 min. Foi realizada a leitura da absorvância em espectrofotômetro (Espectrofotômetro UV-Vis, Perkin-Elmer) a 540 nm. Para o IFM foram transferidas alíquotas de solução de miofibrilas conforme os resultados obtidos no ensaio protéico para tubos de ensaio. Em seguida, foi adicionada a quantidade de solução tampão para completar 4 mL, e então, foi adicionado 4 mL de reagente de Biureto. Novamente, foi homogeneizado em vórtex e deixado em repouso por 30 min em ambiente escuro. Em seguida foi realizada a leitura da absorvância em espectrofotômetro (Espectrofotômetro UV-Vis, Perkin-Elmer) a 540 nm. O IFM foi calculado multiplicando-se a absorvância por 200.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DO MÚSCULO *BICEPS FEMORIS* SUBMETIDO AO ULTRASSOM

Para a força de cisalhamento, verificou-se que as variáveis x_1 (intensidade de ultrassom) e x_2 (tempo de aplicação) do DCCR não apresentaram efeito significativo ($p > 0,05$) nos tempos de 24 h e 72 h, somente para 144 h (T3). Os efeitos das variáveis e a resposta experimental para a força de cisalhamento para T3 estão apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5. Conforme os coeficientes de regressão (Tabela 4) as variáveis x_1 (intensidade de ultrassom) e x_2 (tempo de aplicação) apresentaram efeito significativo sobre variável dependente força de cisalhamento para T3, ou seja, houve a melhoria da maciez do músculo *Biceps femoris* ao longo do armazenamento.

Neste DCCR, observou-se o efeito significativo ($p \leq 0,05$) para o termo linear x_2 (Tempo) e para os termos quadráticos das variáveis x_1 (Intensidade) e x_2 (Tempo) (Tabela 4). Sendo que para o termo linear x_2 (Tempo) ocorreu efeito significativo negativo na força de cisalhamento e para as variáveis x_1 (Intensidade) e x_2 (Tempo) houve efeito significativo positivo para os termos quadráticos. Esta diminuição da força de cisalhamento pode ter sido ocasionada pela ativação da proteólise pela libertação das catepsinas a partir de lisossomos e dos íons Ca^{2+} de reservas intracelulares e na sequência ativação das calpaínas pela aplicação do ultrassom (GOT et al., 1999; JAYASOORIYA et al., 2004, 2007; LYNG; ALLEN; MCKENNA, 1998). Resultados similares foram reportados por Got et al. (1999) em um estudo de aplicação de ultrassom (2,6 MHz, 10 W cm⁻², 15 s) em músculos *Semimembranosus* em dois tempos: pré-rigor e *post-rigor* (24 h *post-mortem*). Os autores observaram que no segundo caso houve melhoria na maciez da carne apenas no sexto dia *post-mortem* (5 dias após sonicação).

TABELA 3 – Matriz dos ensaios do DCCR 2² com as variáveis independentes e resposta experimental força de cisalhamento (Y) do músculo *Biceps femoris* nos tempos de armazenamento de 24 h, 72 h e 144h.

| Ensaio | Intensidade (W cm ⁻²) | Tempo (s) | Y _{24h} | Y _{72h} | Y _{144h} |
|--------|-----------------------------------|-------------|------------------|------------------|-------------------|
| 1 | -1 (15,07) | -1 (60) | 70,85 ±5,88 | 55,43 ±5,69 | 65,65 ±3,04 |
| 2 | -1 (15,07) | +1 (180) | 78,36 ±1,54 | 55,08 ±2,87 | 52,10 ±3,26 |
| 3 | +1 (30,13) | -1 (60) | 69,71 ±1,30 | 68,29 ±5,14 | 59,40 ±4,68 |
| 4 | +1 (30,13) | +1 (180) | 57,36 ±5,42 | 55,94 ±3,19 | 49,82 ±3,19 |
| 5 | -α (11,30) | 0 (120) | 63,61 ±4,10 | 57,09 ±0,39 | 52,61 ±3,08 |
| 6 | +α (33,90) | 0 (120) | 69,47 ±4,82 | 57,92 ±2,70 | 56,71 ±3,37 |
| 7 | 0 (22,60) | -α (35,15) | 67,28 ±2,18 | 56,70 ±0,29 | 67,77 ±1,39 |
| 8 | 0 (22,60) | +α (204,85) | 59,38 ±1,77 | 67,07 ±4,14 | 54,00 ±5,51 |
| 9 | 0 (22,60) | 0 (120) | 62,17 ±5,79 | 57,13 ±1,81 | 47,98 ±3,57 |
| 10 | 0 (22,60) | 0 (120) | 64,59 ±4,91 | 60,82 ±5,75 | 45,04 ±6,57 |
| 11 | 0 (22,60) | 0 (120) | 63,35 ±5,32 | 60,36 ±4,16 | 44,82 ±4,48 |

Fonte: A autora (2017).

TABELA 4 – Coeficientes de regressão para a resposta Y= força de cisalhamento (N) do músculo *Biceps femoris* após 144 h de armazenamento.

| Fonte de variação | Coefficiente de Regressão | Erro padrão | t (5) | P-valor |
|---------------------------------------|---------------------------|-------------|--------|---------|
| Média | 45,951 | 1,547 | 29,705 | 0,000* |
| (X ₁) Intensidade (L) | -0,345 | 0,949 | -0,363 | 0,731 |
| (X ₁) Intensidade (Q) | 4,104 | 1,132 | 3,625 | 0,015* |
| (X ₂) Tempo (L) | -5,334 | 0,949 | -5,622 | 0,002* |
| (X ₂) Tempo (Q) | 7,235 | 1,132 | 6,391 | 0,001* |
| (X ₁) x (X ₂) | 0,993 | 1,340 | 0,741 | 0,492 |

Fonte: A autora (2017).

* Efeito significativo (p < 0,05); L: termos lineares; Q: termos quadráticos.

Considerando que a análise de variância (Tabela 5) foi altamente significativa (P-valor = 0,0001) foi possível obter o modelo matemático preditivo (Equação 3) com as variáveis codificadas de termos significativos. Os parâmetros não significativos foram incorporados nos resíduos para calcular a análise de variância.

TABELA 5 – ANOVA do modelo composto central rotacional para predição da força de cisalhamento do músculo *Biceps femoris* 144 h após o tratamento com ultrassom.

| Fonte de Variação | SQ ^a | GL ^b | QM ^c | F _{calculado} | P-valor |
|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------|---------|
| Regressão | 544,54 | 3 | 181,51 | 31,15 | 0,0001 |
| Resíduos | 40,78 | 7 | 5,83 | | |
| Total | 585,32 | 10 | | | |

Fonte: A autora (2017).

% variação explicada (R²)=93,03% (F_{0,05,3,7} = 4,35)

^a = soma dos quadrados, ^b = graus de liberdade, ^c = quadrados médios

$$\hat{y} = 45,951 - 5,334x_2 + 4,104x_1^2 + 7,235x_2^2 \quad (3)$$

O $F_{\text{calculado}}$ foi 7,16 vezes maior que F_{tabelado} . Segundo Barros Neto, Scarminio e Bruns (1995), quando $F_{\text{calculado}}$ é no mínimo de 4 a 5 vezes o valor de F_{tabelado} assegura-se que a regressão foi significativa e o modelo é útil para fins preditivos (Tabela 5). Desta forma, foi possível construir a superfície de resposta, na qual se observa que há uma região para a menor força de cisalhamento do músculo *Biceps femoris* na faixa de combinações das variáveis x_1 (Intensidade) e x_2 (Tempo), equivalente ao ponto central para x_1 e próxima ao ponto central para x_2 (intensidade de 22,60 W cm⁻² (0) e 163,8 s (0,73)). No entanto considerando-se que a redução da força de cisalhamento conseguida no ponto ótimo ($\hat{y} = 45,911$) é muito pequena em relação a estimada no ponto central ($\hat{y} = 45,951$) e que para atingi-la seria necessário 43 s a mais de tratamento com ultrassom, optou-se por considerar o ponto central a região mais satisfatória para a redução na força de cisalhamento.

Pela análise da superfície de resposta para as faixas estudadas, observa-se que o tempo prolongado de exposição do músculo *Biceps femoris* ao ultrassom induz ao aumento da força de cisalhamento, o que pode ser explicado pela geleificação do colágeno e/ou danos sofridos pelas enzimas catepsinas e calpaínas (SMITH et al., 1991; POHLMAN; DIKEMAN; ZAYAS, 1997; GOT et al., 1999).

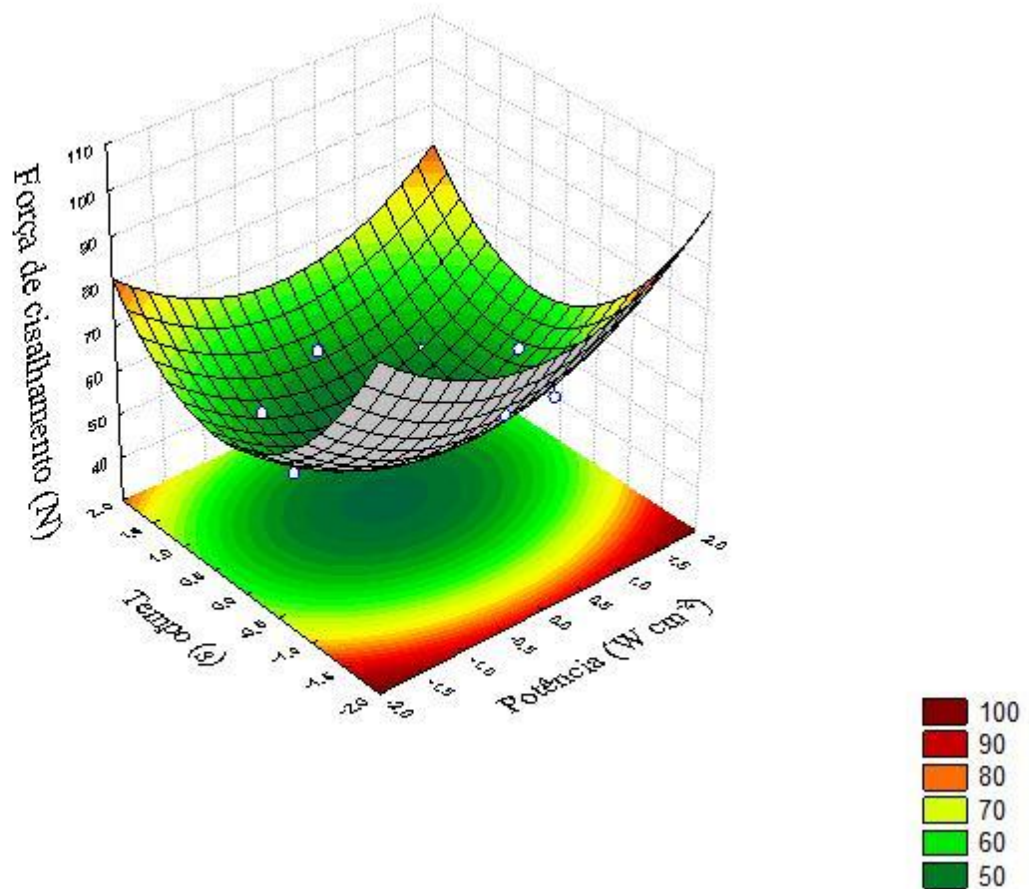


Fig. 1. Superfície de resposta para a força de cisalhamento para o músculo *Biceps femoris* após 144 h (T3) de aplicação do ultrassom em função da intensidade (W cm^{-2}) e tempo (s).
Fonte: A autora (2017).

Rodrigues e Iemma, (2005) sugerem a realização de ensaios nas condições definidas para validação experimental da resposta prevista pelo modelo proposto após a análise de superfície de resposta, em triplicata. Portanto, para validar a resposta prevista do modelo preditivo para a resposta força de cisalhamento do músculo *Biceps femoris*, realizou-se um ensaio correspondente ao ponto central ($22,60 \text{ W cm}^{-2}$ e 120 s) em triplicata. A força de cisalhamento (Y) obtida foi de 48,89 N. Comparando a resposta experimental com a resposta prevista pelo modelo (Equação 3) que foi de 45,95 N para a força de cisalhamento do músculo *Biceps femoris*. Obte-se o erro relativo de 6,40 %, confirmando a validação do modelo predito, cujos dados foram ajustados adequadamente aos dados experimentais. Para a amostra controle após 144 h de armazenamento a força de cisalhamento foi de 60,62 N, sendo 24 % superior a amostra tratada com ultrassom.

Em relação as variáveis dependentes pH, medida instrumental de cor, CRA e perda de peso por exsudação, as variáveis x_1 (intensidade de ultrassom) e x_2 (tempo de aplicação) do DCCR não apresentaram efeito significativo ($p > 0,05$) nas condições estudadas em nenhum

dos tempos analisados (24, 72 e 144 h após a aplicação do ultrassom), demonstrando que o tratamento com ultrassom nas condições estudadas não afetaria negativamente estas características da carne. Portanto, como não foi possível construir a superfície de resposta ou curvas de contorno para estas variáveis e optou-se por comparar os resultados obtidos nos tratamentos e amostras controle para cada variável no ponto central do DCCR (Tabela 6).

TABELA 6 – Resultados obtidos para o músculo *Biceps femoris* submetido ao ultrassom (intensidade de 22,60 Wcm⁻² e tempo de 120 s) para as análises de pH, medida instrumental de cor, CRA e perda de peso por exsudação.

| Amostras | pH | L* | Cor | | CRA (%) | Perda por exsudação (%) |
|------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | | | a* | b* | | |
| T1 (24h) | 5,53 ^b ± 0,02 | 45,73 ^a ± 3,90 | 15,80 ^a ± 1,73 | 10,16 ^a ± 2,85 | 68,21 ^a ± 1,78 | 1,99 ^{bc} ± 0,93 |
| C1 (24h) | 5,54 ^b ± 0,05 | 44,56 ^{ab} ± 2,86 | 16,29 ^a ± 1,46 | 9,42 ^a ± 1,21 | 69,50 ^a ± 1,55 | 1,62 ^b ± 0,29 |
| T2 (72 h) | 5,59 ^{ab} ± 0,05 | 41,39 ^{bc} ± 2,06 | 14,57 ^a ± 2,05 | 12,12 ^a ± 1,96 | 69,19 ^a ± 2,13 | 2,97 ^{ac} ± 0,94 |
| C2 (72 h) | 5,59 ^{ab} ± 0,02 | 40,51 ^c ± 1,04 | 16,79 ^a ± 1,61 | 10,75 ^a ± 2,28 | 68,03 ^a ± 1,84 | 2,85 ^{abc} ± 0,93 |
| T3 (144 h) | 5,62 ^a ± 0,06 | 40,34 ^c ± 2,31 | 15,91 ^a ± 1,92 | 12,22 ^a ± 1,75 | 68,07 ^a ± 1,69 | 4,10 ^a ± 0,73 |
| C3 (144 h) | 5,64 ^a ± 0,03 | 39,65 ^{bc} ± 1,09 | 15,07 ^a ± 1,58 | 11,47 ^a ± 2,72 | 68,40 ^a ± 1,93 | 3,98 ^a ± 1,37 |

Fonte: A autora (2017).

Valores com letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente ($p < 0,05$). Os resultados estão representados pela média ± DP (n=6 repetições).

Ao compararmos o pH das amostras controle do músculo *Biceps femoris* às amostras sonicadas armazenadas por 24 h (T1) e 72 h (T2), observamos que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para este parâmetro. Entretanto, após 144 h (T3) de armazenamento, observou-se valores de pH superiores e estatisticamente diferentes das amostras armazenadas por 24 h. Este aumento de pH é devido à reações bioquímicas que ocorrem ao longo do período de maturação da carne. Alguns estudos relatam que o tempo prolongado de aplicação de ultrassom poderia causar danos às células liberando íons Ca^{2+} no citosol e mudando a estrutura de proteínas e neutralizando os grupos ácidos, este fato contribuiria com a hipótese de que o ultrassom seria capaz de acelerar o processo de maturação dos cortes cárneos (GOT et al., 1999; JAYASOORIYA et al., 2007; STADNIK; DOLATOWSKI, 2011), o que não foi observado nas condições em que este estudo foi realizado, já que o pH do músculo *Biceps femoris* submetido ao ultrassom não diferiu significativamente ($p > 0,05$) da amostra controle.

A cor é provavelmente o principal atributo de qualidade que leva o consumidor a decidir pela aquisição de determinado produto cárneo (SARANTÓPOULOS; PIZZINATTO,

1990; OLIVO, 2006), desta forma, o estudo do efeito que o ultrassom pode causar sobre esta característica é muito importante. Nas condições estudadas, observou-se que para as análises de medida instrumental de cor, que o parâmetro L^* (luminosidade) diminuiu significativamente ($p < 0,05$) tanto para a amostra do músculo *Biceps femoris* submetido ao ultrassom quanto para a amostra controle ao longo do período de armazenamento, ou seja, houve diminuição da luminosidade, ou seja, um escurecimento da amostra devido a formação da metamioglobina, pigmento de cor marrom, com o ferro no estado Fe^{3+} e oriundo da oxidação da mioglobina (WALLACE et al., 1982). Porém, para cada tempo de armazenamento avaliado não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras tratadas com ultrassom e sua respectiva amostra controle, indicando que o ultrassom não foi prejudicial à coloração da carne. Os parâmetros a^* (componente vermelho-verde), b^* (componente amarelo-azul) não diferiram ($p > 0,05$) entre os tratamentos e nem mesmo ao comparar com as amostras controles. Resultados semelhantes foram obtidos por Jayasooriya et al. (2007) e Stadnik e Dolatowski (2011) que também não observaram alteração dos parâmetros de cor L^* , a^* e b^* ao compararem com a amostra controle.

Para as análises de CRA não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos e nem mesmo quando comparados às amostras controle. Estes resultados são favoráveis à aplicação do ultrassom e sugerem que não ocorreu desnaturação/degradação proteica durante o período de estocagem (POHLMAN; DIKEMAN; ZAYAS, 1997; POHLMAN; DIKEMAN; KROPF, 1997; LYNG; ALLEN; MCKENNA, 1998). Entretanto, apesar dos resultados obtidos para a CRA, as mudanças estruturais e as características da água da carne maturada não favorecem a retenção de água na carne durante a cocção (WU et al., 2006). Os valores obtidos para a perda por exsudação indicaram um aumento significativo ($p < 0,05$) ao longo do tempo de armazenamento, entretanto a perda por exsudação para o músculo *Biceps femoris* submetido ao ultrassom não foi superior a amostra controle. Este aumento na perda de peso por exsudação durante a cocção em carne maturada pode ser devido à desintegração das fibras durante a maturação (STRAADT et al., 2007).

5.2 DEMAIS DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

As análises descritas a seguir foram realizadas em amostras de músculo *Biceps femoris* submetidas ao tratamento com ultrassom correspondente apenas à condição otimizada (frequência: 80 kHz; intensidade: 22,6 W cm⁻² e tempo: 120 s), sendo comparadas à amostra controle. Na Figura 2 são apresentados os resultados obtidos na oxidação lipídica e, na Tabela 7, os valores obtidos para o teor de cálcio sarcoplasmático e IFM.

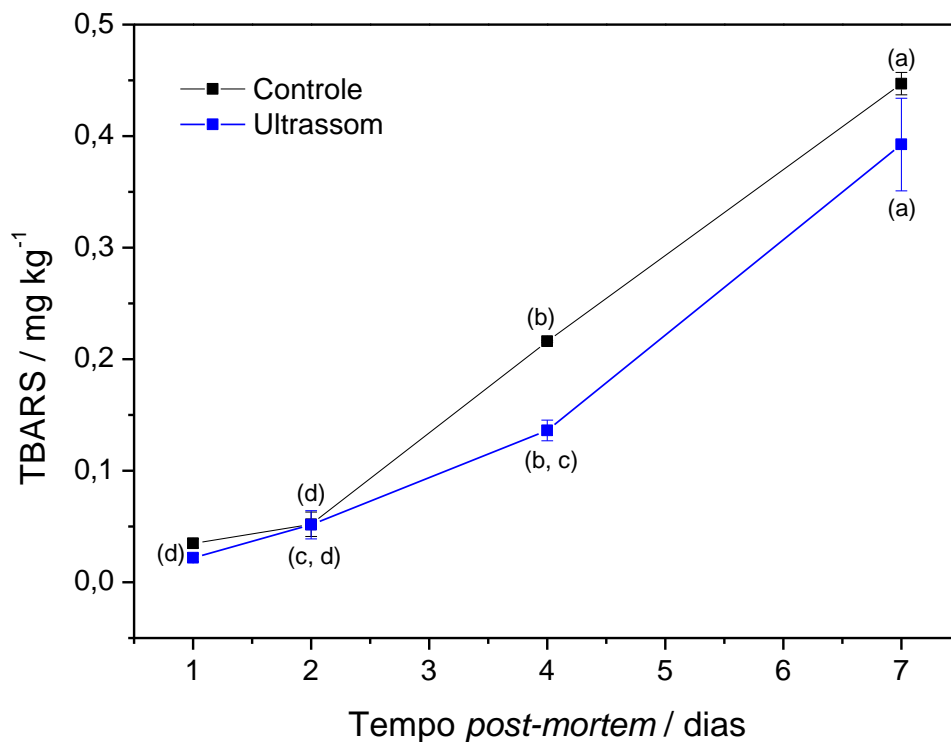


Fig. 2. Resultados da análise de TBARS em função do tempo de maturação de amostras do músculo *Biceps femoris* controle (sem aplicação de ultrassom) e com aplicação de ultrassom 24 h *post-mortem* (80 kHz, 22,6 W cm⁻², 120 s). Letras diferentes indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$) nos diferentes tempos de armazenamento.

Fonte: A autora (2017).

Alguns autores relataram que poderia ocorrer a degradação de compostos nutricionais durante o tratamento da carne com ultrassom devido a produção de *off-flavors* causados pela

oxidação lipídica e/ou proteica, devido a quebra de moléculas de água durante a cavitação que consequentemente, formação de radicais livres e intensificação das reações químicas que ocorrem na carne (CAVALIERI et al., 2008). As altas temperaturas e pressões provocadas durante o colapso das bolhas de gás seriam capazes de provocar a formação de radicais hidroxil (OH•) e átomos de hidrogênio gerados a partir da dissociação das moléculas de água em soluções aquosas (RIESZ; KONDO, 1992).

Os valores de TBARS obtidos para as amostras de músculo *Biceps femoris* controle e tratadas com ultrassom não foram estatisticamente diferentes ($p > 0,05$) durante todo o tempo de armazenamento (Figura 2). Estes resultados demonstraram que a aplicação de ultrassom não provocou alterações significativas na oxidação lipídica da carne nas condições propostas no presente estudo. No estudo de Kang et al. (2016) o efeito do tempo de ultrassom (30 a 120 min) e a intensidade de ultrassom (2,39 a 20,96 W cm⁻²) foram avaliados sobre a oxidação lipídica. A maior oxidação lipídica ocorreu com o aumento da intensidade e tempo de ultrassom. Utilizando a intensidade de 20,96 W cm⁻² durante 30 min de ultrassom o valor de TBARS obtido foi de aproximadamente 0,6 mg kg⁻¹ de carne, enquanto que o uso da mesma intensidade por 120 min resultou em valor de aproximadamente 1,25 mg kg⁻¹ de carne. Segundo Faustman et al. (2010) a oxidação lipídica pode afetar também a cor da carne. Produtos primários e secundários do processo de oxidação lipídica podem interferir na ligação da mioglobina com o oxigênio, promovendo mudanças da cor. Como mencionado anteriormente, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) dos valores obtidos para L*, a* e b* da amostra sonicada quando comparados à amostra controle.

TABELA 7 –Valores médios e desvio padrão das análises teor de cálcio sarcoplasmático e IMF para o músculo *Biceps femoris*.

| Amostras | Cálcio sarcoplasmático ($\mu\text{g g}^{-1}$) | IFM |
|------------|---|--------------------------------|
| C0 (0 h) | 5,19 ^e \pm 0,29 | 71,3 ^a \pm 1,47 |
| T1 (24 h) | 6,86 ^{b,c} \pm 0,42 | 70,5 ^a \pm 2,10 |
| C1 (24 h) | 5,49 ^{d,e} \pm 0,34 | 68,8 ^{a,b} \pm 1,11 |
| T2 (72 h) | 10,22 ^a \pm 0,62 | 65,7 ^b \pm 0,83 |
| C2 (72 h) | 7,67 ^b \pm 0,53 | 67,5 ^{a,b} \pm 1,81 |
| T3 (144 h) | 6,57 ^{b,c,d} \pm 0,56 | 67,3 ^{a,b} \pm 1,10 |
| C3 (144 h) | 6,24 ^{c,d,e} \pm 0,31 | 68,0 ^{a,b} \pm 1,44 |

Fonte: A autora (2017).

Letras diferentes na mesma coluna indicam que há diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

À medida que aumenta o tempo *post-mortem*, o pH muscular e o nível de ATP diminuem e a liberação de cálcio aumenta devido à inibição dos sistemas energéticos de regulação. Segundo Warner et al. (2017) a aplicação do ultrassom pode além de provocar a ruptura física do tecido causada pela cavitação, contribuir para a maior liberação de cálcio e consequentemente, ativar enzimas e alterar o metabolismo pré-rigor da carne pela liberação do maior teor de cálcio. Os valores de cálcio sarcoplasmático obtidos no presente estudo foram superiores nas amostras tratadas por ultrassom, do que nas amostras controle ($p \leq 0,05$). Estes resultados corroboram com o reportado por GOT et al. (1999) em seu estudo de aplicação de ultrassom no músculo *Semimembranosus*, onde amostras controle apresentaram valores de cálcio sarcoplasmático inferiores aos das amostras tratadas do ultrassom. No presente estudo, o aumento do teor de cálcio sarcoplasmático nas amostras tratadas com ultrassom em comparação com as amostras controle foi mais intenso e significativo ($p \leq 0,05$) nas 72 h após o tratamento (4 dias *post-mortem*). Contudo, durante o armazenamento houve redução do teor de cálcio tanto no controle quanto nas amostras tratadas às 144 h após o tratamento (7 dias *post-mortem*).

O IFM é uma medida indireta da atividade proteolítica de enzimas do sistema calpaína, ativada pela presença de cálcio sarcoplasmático (WILHELM et al., 2010). Os valores IFM obtidos no presente estudo, tanto para as amostras controle quanto para as amostras tratadas com ultrassom, foram superiores a 60, o que as caracteriza como macias. Segundo Culler et al. (1978) amostras que apresentam valor de IFM igual ou maior que 60 são consideradas muito macias. Além disso, não houve diferença estatística entre os valores obtidos para as amostras tratadas com ultrassom e os seus respectivos controles ($p > 0,05$).

O aumento do IFM ocorre pela ruptura dos componentes da estrutura miofibrilar durante o *post-mortem*, de modo que o tempo de armazenamento favorece o aumento da fragmentação pela ação das enzimas que promovem a degradação da estrutura formada pelo complexo actomiosina (TAYLOR et al., 1995; MARINO et al., 2013). Contudo, no presente estudo, o IFM reduziu com o tempo de armazenamento, sendo que o menor índice foi obtido no T2 (72 h após o tratamento, 4 dias *post-mortem*) ($p \leq 0,05$), coincidentemente o tratamento com maior teor de cálcio sarcoplasmático. Estes resultados podem ser explicados por dois fatores distintos. Apesar da ruptura física das membranas sarcoplasmáticas ser favorecida com a aplicação de ultrassom, liberando cálcio sarcoplasmático que favoreceria a proteólise oriunda do sistema calpaína e a liberação das catepsinas lisossomais, Chang et al. (2012)

sugerem que o ultrassom pode inativar algumas das enzimas proteolíticas em função das condições de aplicação de ultrassom por cavitação, sendo esta uma das possíveis causas para a redução do IFM em relação ao controle do tempo zero. Outro fator sugerido é que a presença de cálcio sarcoplasmático também pode ativar as calpastatinas inibidoras de calpaínas, reduzindo a atividade proteolítica (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006).

Os valores de IFM podem ser correlacionados com a força de cisalhamento (WILHELM et al., 2010). Neste estudo, os valores de força de cisalhamento foram inferiores em amostras tratadas do que nas amostras controle, conforme discutido acima, diferente do observado para o IFM que não apresentou diferença. O aumento da maciez da carne pode ser explicado por outros modos de ação do ultrassom além da proteólise da estrutura do tecido muscular esquelético. O processo de fragmentação do colágeno presente no tecido conjuntivo pode ser favorecido pela aplicação de ultrassom e conseqüentemente afetar o amaciamento da carne (MISRA et al., 2017), sendo que este tipo de fragmentação não pode ser identificado por IFM. O músculo *Biceps femoris* é um corte rico em tecido conjuntivo, o que corrobora com o discutido acima.

As amostras de músculo *Biceps femoris* bovino submetido ao tratamento com ultrassom e suas respectivas amostras controle apresentaram maior proporção dos ácidos graxos 16:0 (palmítico), 18:0 (esteárico) e 18:1n-9 (oleico), durante todo o armazenamento (Tabela 7). Maiores proporções de 18:0 e 18:1n-9 na percentagem total de ácidos graxos também foram reportados por Chiaia et al. (2017) em seu estudo avaliando carne proveniente de bovinos Nelore. A presença de ácidos graxos *trans* foi observada nas amostras de carne bovina (18:1n-9*t* e 18:2n-6*t*). A formação destes ácidos graxos na carne bovina pode estar relacionada com a ação de enzimas produzidas por micro-organismos presentes no rúmen do animal, que promovem a formação de compostos *trans* a partir de ácidos graxos insaturados que são obtidos durante a alimentação dos ruminantes, sendo um o ácido vacênico (18:1n-9*t*) um dos ácidos graxos formados (DOREAU; CHILLIARD, 1997).

A aplicação de ultrassom promoveu alterações no perfil de ácidos graxos da carne. As somatórias de ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), poli-insaturados (AGPI), n-6, n-3 e a razão n-6/n-3 apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre amostras tratadas e às controle, em todos os dias de armazenamento. Após 24 h do tratamento de ultrassom observou-se que as somatórias de AGPI e AGMI foram superiores ($p \leq 0,05$) nas amostras sonicadas em comparação aos seus respectivos controles, e o inverso pode ser observado para a somatória de AGS. Esses resultados podem estar correlacionados ao processo de ruptura da membrana celular, constituída de fosfolipídios, e conseqüente

liberação de ácidos graxos insaturados ocasionadas pelas ondas de ultrassom. Contudo, durante o armazenamento houve variação entre as proporções desses ácidos graxos nas amostras tratadas e controle, o que pode estar relacionado com o processo de oxidação lipídica, conforme previamente discutido nas análises de TBARS.

A razão de n-6/n-3 variou de 21,17 (T2) a 28,91 (C3) e não apresentou diferença significativa entre os tratamentos e seus controles ($p > 0,05$), com exceção do T2 (72 h após tratamento). Os produtos do metabolismo de n-6 e n-3 são diferentes, sendo que no primeiro são obtidos mediadores inflamatórios e, no segundo, anti-inflamatórios; portanto, o estudo da razão n-6/n-3 vem sendo avaliada. Bonoli et al. (2007) e Simopoulos (2004) sugerem como adequada a razão n-6/n-3 igual a 4, seguindo recomendações da Europa. Apesar da razão observada no presente trabalho ter sido superior ao recomendado pelos autores, sabe-se que a carne bovina não é uma fonte importante de ácidos graxos n-3.

TABELA 8 – Composição total de ácidos graxos (ácidos graxos principais expressos como percentagem de ácidos graxos totais) para o músculo *Biceps femoris* bovino da raça Nelore.

(continua)

| Ácidos graxos (%) | C0 | T1 | C1 | T2 | C2 | T3 | C3 |
|-------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 10:0 | 0,05 ^{a,b} ± 0,00 | 0,05 ^{a,b} ± 0,00 | 0,06 ^a ± 0,01 | 0,06 ^a ± 0,00 | 0,04 ^b ± 0,00 | 0,04 ^b ± 0,00 | 0,04 ^b ± 0,00 |
| 12:0 | 0,07 ^{b,c} ± 0,00 | 0,07 ^{b,c} ± 0,00 | 0,08 ^{a,b} ± 0,00 | 0,09 ^a ± 0,00 | 0,06 ^c ± 0,00 | 0,07 ^c ± 0,01 | 0,07 ^c ± 0,01 |
| 14:0 | 3,20 ^{b,c} ± 0,04 | 3,07 ^c ± 0,04 | 3,41 ^b ± 0,03 | 3,81 ^a ± 0,03 | 2,85 ^d ± 0,08 | 3,81 ^d ± 0,04 | 2,85 ^d ± 0,04 |
| 14:1 | 0,76 ^b ± 0,01 | 1,25 ^a ± 0,03 | 0,98 ^b ± 0,06 | 0,10 ^c ± 0,01 | 1,29 ^a ± 0,09 | 1,26 ^a ± 0,11 | 0,84 ^b ± 0,08 |
| 15:0 | 0,79 ^c ± 0,00 | 0,83 ^{b,c} ± 0,02 | 0,86 ^b ± 0,01 | 0,92 ^a ± 0,01 | 0,78 ^c ± 0,02 | 0,79 ^d ± 0,01 | 0,70 ^c ± 0,00 |
| 16:0 | 26,10 ^b ± 0,10 | 24,82 ^{c,d} ± 0,08 | 26,07 ^b ± 0,27 | 26,95 ^a ± 0,15 | 25,09 ^c ± 0,18 | 24,24 ^d ± 0,19 | 24,43 ^{c,d} ± 0,21 |
| 16:1 | 2,67 ^c ± 0,04 | 4,06 ^{a,b} ± 0,29 | 3,23 ^{b,c} ± 0,19 | 2,80 ^c ± 0,01 | 4,23 ^a ± 0,28 | 4,15 ^{a,b} ± 0,33 | 2,91 ^c ± 0,29 |
| 17:0 | 1,94 ^c ± 0,01 | 1,85 ^d ± 0,02 | 2,03 ^b ± 0,01 | 2,28 ^a ± 0,00 | 1,59 ^f ± 0,00 | 1,66 ^e ± 0,03 | 1,63 ^{e,f} ± 0,03 |
| 17:1 | 1,55 ^b ± 0,02 | 0,03 ^c ± 0,00 | 1,82 ^a ± 0,05 | 1,65 ^b ± 0,01 | 1,83 ^a ± 0,01 | 1,93 ^a ± 0,01 | 0,04 ^c ± 0,00 |
| 18:0 | 12,84 ^{a,b} ± 0,03 | 9,98 ^{c,d} ± 0,49 | 12,16 ^{a,b} ± 0,56 | 13,77 ^a ± 0,07 | 8,69 ^b ± 0,30 | 9,27 ^d ± 0,42 | 11,48 ^{b,c} ± 0,76 |
| 18:1n-9t | 3,70 ^{b,c} ± 0,01 | 3,78 ^{b,c} ± 0,07 | 4,05 ^b ± 0,05 | 4,79 ^a ± 0,01 | 3,23 ^{d,e} ± 0,10 | 3,58 ^{c,d} ± 0,01 | 3,17 ^e ± 0,22 |
| 18:1n-9c | 33,50 ^{c,d} ± 0,41 | 39,25 ^a ± 1,28 | 36,08 ^{b,c} ± 0,43 | 36,62 ^{a,b} ± 0,03 | 36,68 ^{a,b} ± 0,74 | 36,63 ^{a,b} ± 0,78 | 32,38 ^d ± 0,76 |
| 18:2n-6t | 0,08 ^b ± 0,00 | 0,09 ^b ± 0,01 | 0,09 ^b ± 0,00 | 0,11 ^b ± 0,00 | 0,08 ^a ± 0,00 | 0,03 ^c ± 0,01 | 0,08 ^b ± 0,01 |
| 18:2n-6c | 9,56 ^b ± 0,44 | 8,01 ^{b,c} ± 0,86 | 6,82 ^{c,d} ± 0,21 | 4,92 ^d ± 0,01 | 9,62 ^b ± 0,76 | 9,59 ^b ± 0,78 | 13,47 ^a ± 0,10 |
| 18:3n-6 | 0,05 ^b ± 0,00 | 0,04 ^{b,c} ± 0,01 | 0,04 ^{b,c} ± 0,00 | 0,01 ^c ± 0,00 | 0,07 ^b ± 0,01 | 0,06 ^b ± 0,01 | 0,12 ^a ± 0,01 |
| 20:0 | 0,07 ^{a,b,c} ± 0,00 | 0,07 ^{a,b,c} ± 0,00 | 0,08 ^{a,b} ± 0,01 | 0,08 ^a ± 0,00 | 0,06 ^c ± 0,00 | 0,06 ^c ± 0,00 | 0,07 ^{b,c} ± 0,01 |
| 18:3n-3 | 0,29 ^{a,b} ± 0,00 | 0,26 ^{b,c} ± 0,01 | 0,27 ^{b,c} ± 0,01 | 0,23 ^c ± 0,01 | 0,29 ^b ± 0,01 | 0,28 ^b ± 0,01 | 0,33 ^a ± 0,01 |
| 20:1n-9 | 0,18 ^a ± 0,01 | 0,19 ^a ± 0,01 | 0,17 ^a ± 0,01 | 0,16 ^a ± 0,01 | 0,18 ^a ± 0,01 | 0,18 ^a ± 0,02 | 0,18 ^a ± 0,01 |

TABELA 8 – Composição total de ácidos graxos (ácidos graxos principais expressos como percentagem de ácidos graxos totais) para o músculo *Biceps femoris* bovino da raça Nelore.

| Ácidos graxos (%) | (conclusão) | | | | | | |
|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | C0 | T1 | C1 | T2 | C2 | T3 | C3 |
| 20:2 | 0,11 ^b ± 0,01 | 0,10 ^b ± 0,00 | 0,09 ^{b,c} ± 0,01 | 0,06 ^c ± 0,00 | 0,11 ^b ± 0,01 | 0,12 ^b ± 0,01 | 0,16 ^a ± 0,01 |
| 20:3n-6 | 0,41 ^{b,c} ± 0,02 | 0,34 ^{b,c} ± 0,06 | 0,26 ^{c,d} ± 0,01 | 0,11 ^d ± 0,01 | 0,26 ^b ± 0,01 | 0,45 ^b ± 0,05 | 0,73 ^a ± 0,01 |
| 20:4n-6 | 1,81 ^{b,c} ± 0,12 | 1,55 ^{b,c} ± 0,33 | 1,17 ^{c,d} ± 0,04 | 0,42 ^d ± 0,04 | 2,27 ^b ± 0,30 | 2,23 ^b ± 0,28 | 3,70 ^a ± 0,06 |
| 23:0 | 0,18 ^c ± 0,01 | 0,20 ^c ± 0,04 | 0,15 ^{c,d} ± 0,01 | 0,04 ^d ± 0,01 | 0,35 ^b ± 0,04 | 0,39 ^{ab} ± 0,04 | 0,49 ^a ± 0,01 |
| 20:5 | 0,09 ^b ± 0,00 | 0,07 ^c ± 0,01 | 0,05 ^d ± 0,00 | 0,02 ^e ± 0,00 | 0,09 ^b ± 0,00 | 0,07 ^c ± 0,00 | 0,15 ^a ± 0,00 |
| 22:6n-3 | 0,06 ^b ± 0,00 | 0,07 ^b ± 0,01 | 0,05 ^{b,c} ± 0,00 | 0,02 ^c ± 0,02 | 0,11 ^a ± 0,01 | 0,11 ^a ± 0,01 | 0,15 ^a ± 0,01 |
| AGS | 42,24 ^b ± 0,12 | 40,94 ^{d,e} ± 0,37 | 44,87 ^b ± 0,85 | 47,98 ^a ± 0,11 | 39,51 ^{d,e} ± 0,05 | 39,36 ^e ± 0,20 | 41,64 ^c ± 1,07 |
| AGMI | 42,32 ^{b,c} ± 0,50 | 48,56 ^{ab} ± 1,68 | 46,32 ^a ± 0,61 | 46,12 ^{ab} ± 0,03 | 47,41 ^a ± 1,22 | 47,73 ^a ± 1,34 | 39,50 ^c ± 0,90 |
| AGPI | 12,45 ^b ± 0,44 | 10,51 ^{b,c} ± 1,30 | 8,81 ^{c,d} ± 0,24 | 5,91 ^d ± 0,16 | 13,08 ^b ± 1,16 | 12,92 ^b ± 1,15 | 18,87 ^a ± 0,17 |
| ∑ n-6 | 11,91 ^b ± 0,59 | 10,02 ^{b,c} ± 1,24 | 8,37 ^{c,d} ± 0,24 | 5,59 ^d ± 0,13 | 12,50 ^b ± 1,12 | 12,34 ^b ± 1,10 | 18,09 ^a ± 0,18 |
| ∑ n-3 | 0,44 ^{b,c} ± 0,01 | 0,39 ^{b,c} ± 0,04 | 0,39 ^c ± 0,04 | 0,36 ^d ± 0,00 | 0,48 ^b ± 0,03 | 0,47 ^b ± 0,04 | 0,63 ^a ± 0,01 |
| n-6/n-3 | 27,38 ^{ab} ± 0,69 | 25,54 ^{b,c} ± 0,58 | 23,28 ^{c,d} ± 1,07 | 21,17 ^d ± 0,47 | 26,14 ^{ab,c} ± 0,92 | 26,42 ^{ab} ± 0,37 | 28,91 ^a ± 0,88 |

Fonte: A autora (2017) .

Letras diferentes na mesma linha indicam que há diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

6 CONCLUSÃO

O tratamento com ultrassom apresentou efeito na redução da força de cisalhamento, com o tempo de 120 s e intensidade de $22,60 \text{ W cm}^{-2}$ sendo a melhor condição para a redução da força de cisalhamento para o músculo *Biceps femoris* (amostra de 2 x 5 x 6 cm (altura x largura x comprimento)), com uma redução de 24 % em relação ao controle. O ultrassom foi capaz de reduzir a força de cisalhamento das amostras, sem que os parâmetros de qualidade, como cor, CRA, pH e exsudação fossem prejudicados. O tratamento com ultrassom provocou pequenas alterações na carne, sendo elas o aumento da concentração de cálcio sarcoplasmático e a diminuição da porcentagem de ácidos graxos poli-insaturados. A oxidação lipídica aumentou com o decorrer do período de armazenamento, no entanto não apresentou diferença significativa entre a amostra controle e a amostra tratada, ou seja, o ultrassom não promoveu o aumento da oxidação lipídica para as condições empregadas no estudo. Podendo-se concluir que a aplicação de ultrassom é uma técnica promissora que contribuir na melhoria na redução da força de cisalhamento da carne bovina com potencial para possíveis aplicações pela indústria de produtos cárneos.

REFERÊNCIAS

- AHNSTRÖM, M. L. et al. Influence of slaughter age and carcass suspension on meat quality in Angus heifers. **Animal**, v. 6, n. 9, p. 1554–1562, 2012.
- ALARCÓN-ROJO, A. D. et al. Power ultrasound in meat processing. **Meat Science**, v. 107, p. 86–93, 2015.
- ALMLI, V. L. et al. One technology does not fit all: profiling consumers of tender and tenderised beef steaks. **Meat Science**, v. 93, n. 3, p. 361–370, 2013.
- ALVES, L. L. et al. O ultrassom no amaciamento de carnes The ultrasound on meat tenderization. **Ciência Rural**, v. 43, p. 1522–1528, 2013.
- ARVANITOYANNIS, I. S.; KOTSANOPOULOS, K. V.; SAVVA, A. G. Use of ultrasounds in the food industry— methods and effects on quality, safety and organoleptic characteristics of foods: a review. **Food Science and Nutrition**, p. 109–128, 2015.
- ARZENI, C. et al. Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 3, p. 463–472, 2012.
- ASHOKKUMAR, M. The characterization of acoustic cavitation bubbles - An overview. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 864–872, 2011.
- AWAD, T. S. et al. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 410–427, 2012.
- BAREKAT, S.; SOLTANIZADEH, N. Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 39, p. 223–229, 2017.
- BARROS NETO, B., SCARMINIO, I. S., BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Ed. UNICAMP, Campinas, 2 ed., 1995.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.

BONOLI, M. et al. Effect of feeding fat sources on the quality and composition of lipids of precooked ready-to-eat fried chicken patties. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1327–1337, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e Reforma Agrária. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos De Origem Animal **Título VII: Inspeção Industrial e Sanitária de Carnes e Derivados – Seção II: Matança Normal**. Brasília: 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº3, 17 de janeiro de 2000: Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de Animais de Açougue. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 jan. 2000. Seção 1, p. 14, 2000.

CARAVEO, O. et al. Physicochemical and microbiological characteristics of beef treated with high-intensity ultrasound and stored at 4 °C. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 12, p. 2487–2493, 2015.

CÁRCEL, J. A. et al. High intensity ultrasound effects on meat brining. **Meat Science**, v. 76, n. 4, p. 611–619, 2007.

CÁRCEL, J. A. et al. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 200–207, 2012.

CAVALIERI, F. et al. Ultrasonic synthesis of stable, functional lysozyme microbubbles. **Langmuir**, v. 24, n. 14, p. 10078–10083, 2008.

CHANG, H. J. et al. Effects of characteristics changes of collagen on meat physicochemical properties of beef semitendinosus muscle during ultrasonic processing. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 1, p. 285–297, 2012.

CHANG, H. J. et al. Effects of ultrasound treatment on connective tissue collagen and meat quality of beef semitendinosus muscle. **Journal of Food Quality**, v. 38, n. 4, p. 256–267, 2015.

CHEAH, K. S. et al. Relationship between Ca²⁺ release, sarcoplasmic Ca²⁺, glycolysis end meat quality in halothane-sensitive and halothane-insensitive pigs. **Meat Science**, v.10, n.2, p.117-130, 1984.

CHEAH, K.S.; CHEAH, A.M.; WARING, J.C. Phospholipase A2 activity, calmodulin, Ca²⁺ and meat quality in young and adult halothane-sensitive and halothane-insensitive british landrace pigs. **Meat Science**, v.17, n.1, p.37-53, 1986.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813–835, 2011.

CHIAIA, H. L. J. et al. Genomic prediction for beef fatty acid profile in Nellore cattle. **Meat Science**, v. 128, p. 60–67, 2017.

CRACKEL, R. L. et al. Effect of antioxidants on lipid stability in restructured beef steaks. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 656–657, 1988.

CULLER, R. D. et al. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine Longissimus muscle. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 4, p. 1177–1180, 1978.

DOLATOWSKI, Z. J.; STADNIK, J.; STASIAK, D. Applications of ultrasound in food processing. **Technologia Alimentaria**, v. 6, n. 3, p. 89–99, 2007.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **The British journal of nutrition**, v. 78 Suppl 1, n. May 2017, p. S15–S35, 1997.

FAUSTMAN, C. et al. Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 86–94, 2010.

GALLEGO-JUÁREZ, J. A. et al. Power ultrasonic transducers with extensive radiators for industrial processing. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, n. 6, p. 953–964, 2010.

GAMBUTEANU, C.; FILIMON, V.; ALEXE, P. Effects of ultrasound on technological properties of meat a review. **Food Science and Technology**, v. 14, n. 2, p. 176–182, 2013.

GOGATE, P. R. Cavitation reactors for process intensification of chemical processing applications: A critical review. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 47, n. 4, p. 515–527, 2008.

GOGATE, P. R. Hydrodynamic Cavitation for Food and Water Processing. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 6, p. 996–1011, 2011.

GOT, F. et al. Effects of high-intensity high-frequency ultrasound on ageing rate, ultrastructure and some physico-chemical properties of beef. **Meat Science**, v. 51, n. 1, p. 35–42, 1999.

GÜLSEREN, I. et al. Structural and functional changes in ultrasonicated bovine serum albumin solutions. **Ultrasonics - Sonochemistry**, v. 14, p. 173–183, 2007.

HAMM, R. Biochemistry of meat hydration. **Advances in Food Research**, v. 10, n. C, p. 355–463, 1961.

HEATH-BROWN, N.; ALVAREZ, T.; AUJLA, S. **The statesman's yearbook 2017: the politics, cultures and economies of the world**. Palgrave Macmillan, UK, p.1600, 2016.

HOPKINS, D.; LITTLEFIELD, P.; THOMPSON, J. A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. **Meat Science**, v. 56, n. 1, p. 19–22, 2000.

HU, H. et al. Food hydrocolloids effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. **Food hydrocolloids**, v. 30, n. 2, p. 647–655, 2013.

ISTRATI, D. The influence of enzymatic tenderization with papain on functional properties of adult beef. **Journal of Agroalimentary Processes and Technologies**, v. 14, n. January 2008, p. 140–146, 2008.

JAMBRAK, A. R. et al. Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins. **Journal of Food Engineering**, v. 121, p. 15–23, 2014.

JAYASOORIYA, S. D. et al. Effect of high power ultrasound waves on properties of meat : a review. **International Journal of Food Properties**, v. 7, p. 301–319, 2004.

JAYASOORIYA, S. D. et al. Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine Semitendinosus and Longissimus muscles. **Meat Science**, v. 75, n. 4, p. 628–639, 2007.

JEREMIAH, L. E. The influence of subcutaneous fat thickness and marbling on beef. **Food Research International**, v. 29, n. 5–6, p. 513–520, 1996.

KANG, D. et al. Effects of power ultrasound on oxidation and structure of beef proteins

during curing processing. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 33, p. 47–53, 2016.

KARUMENDU, L. U. et al. Particle size analysis of lamb meat: effect of homogenization speed, comparison with myofibrillar fragmentation index and its relationship with shear force. **Meat Science**, v. 82, p. 425–431, 2009.

KNORR, D. et al. Emerging technologies in food processing. **Food Science and Technology**, v. 2, p. 203–238, 2011.

KOOHMARAIE, M.; GEESINK, G. H. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. **Meat Science**, v. 74, p. 34–43, 2006.

LAWRIE, R. A.; LEDWARD, D. A. **Meat science**. Woodhead Publishing, Cambridge, 7 ed., 2006.

LEADLEY, E.; WILLIAMS, A. Procesado com pulsos electricos, ultrasonidos de potencia y otras tecnologias emergentes. In: BRENNAM, J.G. **Manual del procesamiento de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, cap.7, p.203-237, 2008.

LEE, J. et al. Development and optimization of acoustic bubble structures at high frequencies. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 1, p. 92–98, 2011.

LYNG, J.; ALLEN, P.; MCKENNA, B. The effects of pre- and post-rigor high-intensity ultrasound treatment on aspects of lamb tenderness. **Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 31, n. 4, p. 334–338, 1998a.

LYNG, J. G.; ALLEN, P.; MCKENNA, B. M. The effect on aspects of beef tenderness of pre- and post-rigor exposure to a high intensity ultrasound probe. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 78, n. 3, p. 308–314, 1998b.

MAITY, I.; RASALE, D. B.; DAS, A. K. Sonication induced peptide-appended bolaamphiphile hydrogels for in situ generation and catalytic activity of Pt nanoparticles. **Soft Matter**, v. 8, p. 5301–5308, 2012.

MAO, Y. et al. Consumption patterns and consumer attitudes to beef and sheep meat in China. **American Journal of Food and Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 30–39, 2016.

MARINO, R. et al. Proteolytic pattern of myofibrillar protein and meat tenderness as affected

by breed and aging time. **Meat Science**, v. 95, n. 2, p. 281–287, 2013.

MASON, T. J.; PANIWNKYK, L.; LORIMER, J. P. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 3, n. 3, p. S253–S260, 1996.

MCCLEMENTS, D. J. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, n. September, p. 293–299, 1995.

MCDONNELL, C. K. et al. The effect of ultrasonic salting on protein and water-protein interactions in meat. **Food Chemistry**, v. 147, p. 245–251, 2014.

MISRA, N. N.; CULLEN, P. J.; TIWARI, B. K. **Ultrasound processing applications in the meat industry: emerging technologies in meat processing**. John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2017.

OLIVO, R. Atualidades na qualidade da carne de aves. In: OLIVO, R.; OLIVO, N. **O mundo das carnes. Ciência, Tecnologia & Mercado**. Varela, São Paulo, 2006.

ORDÓÑEZ, J. A. P. et al. **Tecnologia de alimentos**. Artmed. Porto Alegre, v. 2, 2005.

PAZOS, A. A. et al. Tenderness improvement of bovine Biceps femoris muscle by calcium chloride injection. **Journal of Muscle Foods**, v. 13, p. 171–187, 2002.

PIETRASIK, Z.; SHAND, P. J. Bovine *Biceps femoris* is resistant to tenderization by lower-salt moisture enhancement or enzyme addition. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 90, n. 4, p. 495–503, 2010.

PINGRET, D.; FABIANO-TIXIER, A.-S.; CHEMAT, F. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. **Food Control**, v. 31, n. 2, p. 593–606, 2013.

PIYASENA, P.; MOHAREB, E.; MCKELLAR, R. . Inactivation of microbes using ultrasound: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 87, n. 3, p. 207–216, 2003.

POHLMAN, F. W.; DIKEMAN, M. E.; KROPF, D. H. Effects of high intensity ultrasound treatment, storage time and cooking method on shear, sensory, instrumental color and cooking properties of packaged and unpackaged beef pectoralis muscle. **Meat Science**, v. 46, n. 1, p. 89–100, 1997.

- POHLMAN, F. W.; DIKEMAN, M. E.; ZAYAS, J. F. The effect of low-intensity ultrasound treatment on shear properties, color stability and shelf-life of vacuum-packaged beef *Semitendinosus* and *Biceps femoris* muscles. **Meat Science**, v. 45, n. 3, p. 329–337, 1997.
- RIESZ, P.; KONDO, T. Free radical formation induced by ultrasound and its biological implications. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 13, n. 3, p. 247–270, 1992.
- RODRIGUES, M. I.; LEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos**. Casa do Pão Editora, Campinas, 1 ed., 2005.
- SANTOS, H. M.; LODERO, C. CAPELO-MARTÍNEZ, J. L. The power of ultrasound. In: CAPELO-MARTÍNEZ, J. L. **Ultrasound in chemistry: analytical applications**. Wiley, p. 1-11, 2009.
- SARANTOPOULOS, C.I.G.L. E PIZZINATTO, A. **Fatores que afetam a cor das carnes**. **Coletânea ITAL**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 1-12, 1990.
- SIKES, A. L. et al. Quality properties of pre- and post-rigor beef muscle after interventions with high frequency ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 6, p. 2138–2143, 2014.
- SIMOPOULOS, A. P. Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. **Food Reviews International**, v. 20, n. 1, p. 77–90, 2004.
- SMITH, N. B. et al. Tenderization of semitendinosus muscle using high intensity ultrasound. **Ultrasonics symposium**, p. 1371–1374, 1991.
- STADNIK, J.; DOLATOWSKI, Z. J. Influence of sonication on Warner-Bratzler shear force, colour and myoglobin of beef (m. semimembranosus). **European Food Research and Technology**, v. 233, n. 4, p. 553–559, 2011.
- STADNIK, J.; DOLATOWSKI, Z. J.; BARANOWSKA, H. M. Effect of ultrasound treatment on water holding properties and microstructure of beef (m. semimembranosus) during ageing. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 2151–2158, 2008.
- STATSOFT INC. **STATISTICA (data analysis software)**, version 10. Tulsa, Oklahoma, USA, 2013.
- STRAADT, I. K. et al. Aging-induced changes in microstructure and water distribution in

fresh and cooked pork in relation to water-holding capacity and cooking loss - A combined confocal laser scanning microscopy (CLSM) and low-field nuclear magnetic resonance relaxation study. **Meat Science**, v. 75, n. 4, p. 687–695, 2007.

SUSLICK, K. S. The chemical effects of ultrasound. **Scientific American**, v. 260, n. 2, p. 80–86, 1989.

TARLADGIS, B. G.; PEARSON, A. M.; DUGAN JR, L. R. Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods- II. Formation of the TBA-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 15, n. 9, p. 602–607, 1964.

TAYLOR, R. G. et al. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? **Journal of animal science**, v. 73, n. 5, p. 1351–1367, 1995.

TURANTAŞ, F.; KILIÇ, G. B.; KILIÇ, B. Ultrasound in the meat industry: general applications and decontamination efficiency. **International Journal of Food Microbiology**, v. 198, p. 59–69, 2015.

USDA. Livestock and poultry: world markets and trade. **United States Department of Agriculture**, p. 1–25, 2016.

WALLACE, W. J. et al. Mechanism of autooxidation for hemoglobins and myoglobins. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 257, n. 9, p. 4966–4977, 1982.

WILHELM, A. E. et al. Protease activity and the ultrastructure of broiler chicken PSE (pale, soft, exudative) meat. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1201–1204, 2010.

WU, Z. et al. Influence of aging and salting on protein secondary structures and water distribution in uncooked and cooked pork. A combined FT-IR microspectroscopy and ¹H NMR relaxometry study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 22, p. 8589–8597, 2006.

XIONG, W. et al. High intensity ultrasound modified ovalbumin: Structure, interface and gelation properties. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 302–309, 2016.

ZHANG, Z. et al. Effects of high intensity ultrasound modification on physicochemical property and water in myofibrillar protein gel. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 960–967, 2017.