



LORENA MENDES RODRIGUES

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA E DO
CONGELAMENTO PRÉVIOS À MATURAÇÃO
NA MACIEZ DA CARNE BOVINA**

**LAVRAS-MG
2017**

LORENA MENDES RODRIGUES

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA E DO CONGELAMENTO PRÉVIOS
À MATURAÇÃO NA MACIEZ DA CARNE BOVINA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos
Alimentos para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Eduardo Mendes Ramos
Orientador

Prof. Dr. Robledo de Almeida Torres Filho
Coorientador

**LAVRAS-MG
2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Rodrigues, Lorena Mendes.

Efeitos da radiação gama e do congelamento prévios à
maturação na maciez da carne bovina / Lorena Mendes Rodrigues. -
2017.

97 p.

Orientador(a): Eduardo Mendes Ramos.

Coorientador(a): Robledo de Almeida Torres Filho.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Força de cisalhamento. 2. Colágeno. 3. Bos indicus. I.
Ramos, Eduardo Mendes. II. Torres Filho, Robledo de Almeida. III.
Título.

LORENA MENDES RODRIGUES

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA E DO CONGELAMENTO PRÉVIOS
À MATURAÇÃO NA MACIEZ DA CARNE BOVINA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 17 de março de 2017

Dra. Alcinéia de Lemos Souza Ramos, UFLA

Dr. Paulo Rogério Fontes, UFLA

Dra. Monalisa Pereira Dutra Andrade, UFVJM

Prof. Dr. Eduardo Mendes Ramos
Orientador

**LAVRAS-MG
2017**

*Aos meus pais, José Rodrigues e Marlene, por serem meu porto seguro,
Aos meus avós Hilda, Nivalda e Pedro, pelo eterno amor,
Ao meu namorado Ricardo, pelo amor e companheirismo,
E à minha família,
Dedico este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado o dom da vida e me proporcionado mais este sonho e nunca ter me deixado desistir.

À minha Nossa Senhora, por ter me consolado e estado comigo nos momentos alegres e tristes.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos (PPGCA), pela oportunidade de ter feito o Mestrado e ter sido recebida de portas abertas. Em especial, à Lucilene, por estar sempre pronta a me ajudar e pelo carinho sempre.

Ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), por oferecer estrutura para a realização do meu trabalho. Aos professores, pelos ensinamentos e por terem contribuído para a minha formação profissional.

À Universidade Federal de Lavras, por ter me acolhido e proporcionado uma estrutura maravilhosa para que eu pudesse estudar e realizar meu trabalho.

Ao meu orientador, professor Eduardo Mendes Ramos, obrigada pela amizade, pelos ensinamentos, que foram muitos, e por ter me recebido em seu laboratório. Um profissional que tomarei como exemplo a seguir!

Ao meu coorientador, professor Robledo Torres Filho e à sua esposa Vanelle, por terem aberto a porta de sua casa e me recebido com todo carinho. Obrigada, pelos ensinamentos e pela amizade!

À professora Alcinéia Ramos, por ter me recebido em seu laboratório, por estar sempre pronta a ajudar e ter aceito participar da banca, e ainda enriquecer o meu trabalho, obrigada!

Aos membros da banca o professor Paulo Rogério e a professora Monalisa Dutra, por terem aceito participar da banca e contribuído para que o meu trabalho se tornasse ainda melhor. Obrigada!

Ao Instituto de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Campus UFV Florestal, Florestal, Minas Gerais, por ter aberto suas portas para que eu pudesse realizar parte do meu experimento.

Ao Centro de Desenvolvimento de Tecnologia no Nuclear (CDTN), em especial ao pesquisador Dr. Márcio Tadeu Pereira, à Lorraine e ao Omar, pela disposição e o carinho.

À Plena Alimentos, em especial à Carla, Washington e Vinicius, por terem me ajudado durante meu experimento e aberto suas portas para que eu pudesse realizá-lo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento do projeto, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa pesquisa (mestrado).

Aos meus pais, José Rodrigues e Marlene, por tudo que fazem para que eu seja feliz, e pelo infinito amor e companheirismo. Vocês são meus exemplos de vida!

Às minhas vovós Hilda e Nivalda e a meu vovô Pedro, pelo amor, carinho, incentivo, e por estarem sempre comigo. Vocês são minhas joias mais raras!

Ao meu namorado, Ricardo Maia, pelo amor, carinho, e por estar sempre comigo me apoiando, independente da distância.

À minha tia Marli e ao meu tio Morais, por terem me recebido de coração aberto em Lavras, e estarem sempre prontos a me ajudar.

À minha família, por serem a melhor parte de mim e me acolherem com tanto amor.

Aos meus amigos de laboratório, Gabi, Ana Paula, Ítalo, Jéferson, Heweton, Greicey, Lívia, Thais, Ana Alice, Tayná, Bruna, Lucas, Mayara e Amanda, por sempre estarem prontos a me ajudar e terem feito meus dias mais felizes. Em especial, Douglas e Abel, por me ajudarem sempre, desde que cheguei à Lavras, e fazerem minhas tarefas se tornarem mais simples, muito obrigada pela parceria! À Marielle, por ter me demonstrado sua amizade e sua alegria, e por estar sempre me apoiando com todo carinho. À minha companheira de trabalho, Luanna, pelo apoio, amizade e ajuda.

Aos meus amigos de DCA/UFLA, Michele, Amanda, Éloa, Priscilla, Maria Cecília, Taciene, Isadora, Pedro, Ana Paula, Maria Clara, Moises, Raul, Mariana, Marília, Renata, Sabrina, Patrícia, Pedro e a Claudine, pela amizade, momentos felizes, e por terem me acolhido com tanto carinho. Em especial, ao Sérgio Henrique, Esperança, Élidio e Mariá, por estarem sempre ao meu lado, e pela linda amizade que construímos juntos.

À minha amiga Diene France, por estar sempre ao meu lado me ajudando, pelo tempo em que moramos juntas e por ser minha parceira de muitos anos. Obrigada por sua amizade!

Aos meus amigos, Jonas, Natália, Adriano, Pedro e Mariana Mendes, pela amizade e por terem acreditado em mim. À Cláudia, Gislaine, Cyntia, Mayara Coimbra, Ettiene, Mariana Cilene, Mariana Barbosa, pelo carinho.

À professora Márcia Maria de Carvalho, Juliana Pinto e todos os meus professores do IFsudeste - Campus Barbacena, por terem acreditado em mim e me ajudado a chegar a aonde cheguei, obrigada pelos ensinamentos e amizade.

À Ana Elisa e à Aline, por sempre terem trago a felicidade, uma boa conversa para distrair e a amizade.

Ao IFsudeste – Campus Barbacena, por ter me acolhido e me proporcionado uma graduação maravilhosa.

Muito obrigada a todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho. Vocês serão lembrados com muito carinho e respeito, são muito especiais para mim! MUITO OBRIGADA, por tudo!!!!

“Eu gostaria de lhe agradecer pelas inúmeras vezes que você me enxergou melhor do que eu sou. Pela capacidade de me olhar devagar, já que nessa vida muita gente me olhou depressa de mais”. (Padre Fábio de Melo)

“Tudo posso naquele que me fortalece”.

(Filipenses 4, 13)

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da radiação gama e do congelamento prévios à maturação na maciez da carne bovina. Amostras de contrafilés (*Longissimus thoracis* et *lumborum*) esquerdo e direito de animais da raça Nelore (*Bos indicus*), foram submetidas ao tratamento refrigerado (REFR) e ao congelamento (CONG). As amostras destinadas ao tratamento CONT foram irradiadas (0, 3, 6 e 9 kGy) e depois maturadas (1 °C) por 1 e 14 dias, enquanto as do tratamento CONG foram primeiramente congeladas (-18 °C/24 h), irradiadas, descongeladas (4 °C/24 h) e maturadas da mesma forma que as amostras REFR. Para os valores de pH, foi observado um efeito significativo ($P < 0,05$) da interação tratamento x tempo de maturação, sendo que as amostras CONG apresentaram menores valores de pH. As amostras maturadas por 14 dias apresentaram uma maior ($P < 0,05$) solubilidade das proteínas miofibrilares, enquanto que as sarcoplasmáticas foram mais solúveis nas amostras REFR e maturadas por 1 dia. A purga foi maior ($P < 0,05$) nas amostras CONG e irradiadas com as maiores doses (6 e 9 kGy), sendo que as amostras maturadas por 14 dias obtiveram maiores valores de purga. A perda de peso por cozimento (PPC) foi afetada ($P < 0,05$) pela dose de radiação e tratamento, isoladamente, onde as amostras irradiadas apresentaram maiores valores de PPC, enquanto que as amostras CONG obtiveram uma menor PPC. A radiação gama reduziu ($P < 0,05$) a capacidade de retenção de água do músculo bovino. Em contrapartida, a radiação gama aumentou ($P < 0,05$) a porcentagem de colágeno solúvel das amostras irradiadas a 9 kGy. O comprimento do sarcômero aumentou ($P < 0,05$) nas amostras irradiadas com as maiores doses (6 e 9 kGy). A fragmentação miofibrilar aumentou ($P < 0,05$) com o processo de congelamento e descongelamento, entretanto, as amostras irradiadas com doses de 3 e 6 kGy apresentaram ($P < 0,05$) uma menor fragmentação miofibrilar. Nas amostras

CONG, a força de cisalhamento foi maior ($P < 0,05$) naquelas irradiadas do que no controle (0 kGy). Entretanto, as amostras CONG e maturadas por 14 dias obtiveram os menores valores de força de cisalhamento ($P < 0,05$). Assim, concluiu-se que a radiação gama não contornou o problema de inconsistência da maciez da carne bovina, porém, o congelamento prévio à maturação, mostrou ser um método efetivo para favorecer a maciez da carne.

Palavras-chaves: Força de cisalhamento. Colágeno. *Bos indicus*. Sarcômero.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effects of gamma radiation and freezing prior aging on Nellore beef tenderness. Samples of the *Longissimus thoracis et lumborum* were submitted for two treatments: refrigeration and freezing. The refrigerated (REFR) samples were irradiated (0, 3, 6 and 9 kGy) and aged (1 °C) for 1 and 14 days, while those of the freezing treatment (CONG) were first frozen (-18 ° C/ 24 hrs), irradiated, thawed (4 °C/ 24 hrs) and aged in the same way as the REFR samples. The interaction treatment x maturation time effect was observed for the pH factor. Frozen samples had significantly ($P < 0.05$) lower pH values. Aging increased the solubility of myofibrillar proteins ($P < 0.05$) at 14 days, whereas the sarcoplasmic proteins were more soluble in the REFR samples aged for 1 day. The purge was higher ($P < 0.05$) in CONG samples and in irradiated meat by doses of 6 and 9 kGy. However, the aging time for 14 days affected the purge, increasing its values. Cooking losses were affected by treatment and irradiation process, with higher values for irradiated samples and lower values for CONG samples. Gamma irradiation reduced ($P < 0.05$) the water holding capacity of the samples, while soluble collagen of samples irradiated at 9 kGy and sarcomere length of samples irradiated at 6 and 9 kGy were increased ($P < 0.05$). Higher ($P < 0.05$) miofibrillar fragmentation was observed in CONG samples, but samples irradiated at 3 and 6 kGy had lower ($P < 0.05$) values. In the CONG samples, the shear force was higher ($P < 0.05$) in those irradiated than in the control samples (0 kGy). However, the CONG and 14-days aged samples had ($P < 0.05$) the lowest values of shear force. Thus, it was concluded that gamma radiation did not overcome the problem of the inconsistency of bovine meat tenderness, but the freezing prior to aging proved to be helpful method to increase meat tenderness in bovine muscle.

Keywords: Shear force. Collagen. *Bos indicus*. Sarcomere.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Bovinocultura de corte no Brasil	17
2.2 Maciez da carne bovina	18
2.2.1 Proteólise <i>post mortem</i> (maturação)	21
2.2.2 Tecido Conectivo.....	25
2.2.3 Comprimento do sarcômero.....	27
2.3 Irradiação de alimentos.....	29
2.3.1 Legislação	31
2.3.2 Efeitos da radiação em carnes.....	32
2.4.Efeitos do congelamento em carnes.....	37
3 MATERIAIS E MÉTODOS	44
3.1 Delineamento Experimental.....	44
3.2 Obtenção e preparo das amostras.....	44
3.3 Metodologias Analíticas	45
3.3.1 pH	46
3.3.2 Proteínas Extraíveis	46
3.3.3 Capacidade de retenção de água	47
3.3.3.1 Perda por exudação (Purga).....	47
3.3.3.2 Método de pressão em papel filtro (MPPF).....	47
3.3.3.3 Perdas de peso por cozimento (PPC).....	48
3.3.4 Teor de colágeno solúvel e insolúvel.....	48
3.3.5 Comprimento do sarcômero.....	48
3.3.6 Grau de fragmentação miofibrilar.....	49
3.3.7 Força de cisalhamento.....	50
3.4 Análise Estatística.....	50

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1 pH e proteínas extraíveis.....	52
4.2. Perdas de exsudado	58
4.3 Colágeno	66
4.4 Estrutura miofibrilar e maciez	69
5 CONCLUSÃO	80
REFERÊNCIAS	81

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa uma posição de destaque na produção de carnes no cenário mundial. Mais de 80% do rebanho brasileiro são do genótipo *Bos indicus*, que se caracteriza pela resistência ao clima e às patologias encontradas no País. No entanto, a carne do gado zebuino, geralmente possui menor maciez que a carne de animais *Bos taurus*. Sabendo-se que a maciez é considerada um dos atributos mais importantes de qualidade de carne, principalmente para os consumidores, que estão cada vez mais exigentes na escolha dos produtos que desejam comprar, faz-se necessário estudar tecnologias que melhorem a maciez da carne bovina.

Diante dessa problemática, estudos têm sido realizados para determinar formas de melhorar a maciez da carne. Entre os processos estudados, o processo irradiação tem ganhado destaque, uma vez que, além de ser considerado um excelente método para o controle microbiológico em alimentos, tem sido demonstrado um possível favorecimento da radiação na maciez da carne. Sendo esse processo regulamentado pela Resolução nº 21, de 26 de janeiro de 2001, seu uso é permitido em muitos países, inclusive no Brasil. No entanto, os dados ainda são escassos, especialmente em carne de bovinos, necessitando de mais estudos.

O congelamento tem se mostrado eficaz para o amaciamento da carne bovina, entretanto, esse efeito foi visto, principalmente, na carne de animais taurinos (*Bos taurus*). No entanto, para a carne de animais zebuínos mais estudos são necessários para efetivar o efeito do congelamento na maciez da carne desses animais. Seu efeito é mais pronunciado quando é realizado antes do processo de maturação, ou seja, quando a carne é congelada, descongelada e, posteriormente, maturada, por favorecer a proteólise *post mortem*. Além disso, o

congelamento pode ajudar a minimizar os efeitos negativos (coloração, oxidação lipídica e odor) causados pela irradiação sobre a qualidade da carne.

Perante essa expectativa de melhorar a maciez da carne bovina de animais zebuínos, que é a principal raça criada no Brasil e, conseqüentemente, melhorar a qualidade da carne bovina brasileira, novas técnicas estão sendo cada vez mais avaliadas. Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar os efeitos da radiação gama e do congelamento prévios à maturação na maciez de contrafilés (músculo *Longissimus thoracis*) bovinos de animais da raça Nelore (*Bos indicus*).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Bovinocultura de corte no Brasil

O Brasil ocupa uma posição de destaque na produção de carnes. No ano de 2015, o país constituía um rebanho de 209,13 milhões de cabeças de gado bovino e se for contabilizados os bubalinos, esse número aumenta para 210,5 milhões de cabeças de gado. Atualmente, o país possui o segundo maior rebanho do mundo, perdendo somente para a Índia, que possui 298,2 milhões de cabeças. Quanto à produção de carne, o Brasil fica atrás somente dos Estados Unidos, que possui uma produção de 10.818,5 mil toneladas equivalente carcaça (TEC), enquanto que o Brasil produziu cerca de 9.561,1 mil TEC, no ano de 2015, sendo o segundo país com maior exportação de carnes do mundo (1.882,0 mil TEC) (ABIEC, 2016). A bovinocultura é um dos principais destaques do agronegócio brasileiro e responde por 96% de toda a produção agropecuária do país, no qual grande parte desse rebanho está concentrada em algumas regiões, como é o caso do Centro-Oeste e Norte (MATOS, 2010; SILVA, 2012).

Diversos fatores foram determinantes para a conquista brasileira no comércio internacional de carne bovina. Pode-se destacar, principalmente, as ações desenvolvidas em prol da erradicação da febre aftosa que resultaram, em 2011, na inclusão da grande maioria dos estados brasileiros como zona livre de Aftosa (CFA/MA, 2013), que impactaram positivamente as exportações de carne bovina para mercados mais exigentes, como os europeus. Outra característica adicional de valorização foi a produção de alimento seguro, uma vez que a maior parte do rebanho brasileiro é alimentado em pasto. Fatores como melhoramento genético dos animais, solo, condições climáticas favoráveis, manejo adequado, reforma de pastagens e recursos humanos, também passaram a constituir vantagens comparativas, que somadas à extensão territorial, têm permitido ao

país oferecer aos mercados nacional e externo, carne bovina de alta qualidade, em volumes crescentes e a preços competitivos (EMBRAPA, 2007). Além disso, as iniciativas de rastreamento da carne bovina, por meio do atual SISBOV (Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Bovinos e Bubalinos), destinada a exportação, especificamente para o mercado da União Europeia, têm contribuído de maneira significativa para o atendimento das expectativas dos consumidores internacionais, quanto à segurança dos alimentos (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2014).

O rebanho bovino brasileiro é constituído por grande diversidade de raças e, em importância, as raças originárias da Índia, têm papel de destaque na pecuária brasileira. Mais de 80% do rebanho brasileiro é constituído de bovinos com genótipo *Bos indicus* e, de acordo com a Associação dos Criadores de Nelore do Brasil (ACNB), em torno de 80% do gado de corte é Nelore ou anelado, que pela sua rusticidade e alta resistência à temperatura tropical e aos parasitas, se adaptaram bem às condições brasileiras de manejo (ACNB, 2017; BIANCHINI et al., 2007).

2.2 Maciez da carne bovina

Diversos fatores tais como palatabilidade, capacidade de retenção de água, cor, valor nutricional, e segurança alimentar, determinam a qualidade da carne. A importância dessas características varia de acordo com o produto final e o perfil do consumidor (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006). No entanto, a maciez assume posição de destaque como atributo de qualidade da carne bovina, sendo considerada a característica sensorial de maior influência na aceitação da carne por parte dos consumidores (ALVES; MANCIO, 2007; WHIPPLE et al., 1990).

Segundo Bianchini et al. (2007), a maciez da carne bovina é influenciada por fatores *ante mortem*, ou intrínsecos, e os *post mortem*, ou extrínsecos. Na

primeira categoria destacam-se os fatores raça ou genótipo, alimentação, idade, sexo, aplicação de promotores de crescimento e manejo pré-abate. Na segunda, destacam-se aqueles relacionados ao abate industrial, como a taxa de resfriamento e a velocidade de redução do pH muscular, uma vez que o frio interfere diretamente nos processos bioquímicos *post mortem* responsáveis pela transformação do músculos em carne.

Dentre os fatores citados anteriormente, o que mais influencia na maciez da carne bovina é a raça ou genótipo, sendo que os animais *Bos taurus* geralmente apresentam carne mais macia do que os animais *Bos indicus* (SHACKELFORD et al., 1991; WHEELER et al., 1990; WHIPPLE et al., 1990). Segundo Bianchini et al. (2007), existe uma relação positiva entre a maior porcentagem de genes *Bos indicus*, de origem indiana no animal, e a diminuição na maciez da carne maturada, comprovando que animais com menos de 25% de genes *Bos indicus* apresentavam a mesma característica de carne no *post mortem*, do que animais *Bos taurus*. Wheeler et al. (1990) relataram que a presença do gene *Bos indicus* causa maior variação na maciez da carne que os outros fatores.

A menor maciez das carnes de *Bos indicus* deve-se principalmente ao maior teor de calpastatina presente no músculo, o que inibe a ação das calpaínas, principais proteases envolvidas no processo de maturação (KOOHMARAIE, 1994; SHACKELFORD et al., 1991; WHIPPLE et al., 1990).

Os sistemas de calpaínas são um importante contribuinte para a degradação enzimática das proteínas miofibrilares durante o armazenamento da carne, tendo influência direta na maciez da carne (ILIAN; BEKHIT; BICKERSTAFFE, 2004; POMPONIO; ERTBJERG, 2012).

Segundo estudos de Rhee et al. (2004); Starkey et al. (2016) e Wheeler et al. (2000), além da proteólise *post mortem*, existe mais dois fatores importantes que estão relacionados diretamente com a maciez da carne, que são a quantidade

e a solubilidade do colágeno e o encurtamento de sarcômero durante o desenvolvimento do *rigor mortis*.

A maciez da carne é reduzida quando há grande quantidade e estabilidade das ligações químicas entre as fibras de colágeno (ligações cruzadas). Essas ligações são responsáveis pela relativa insolubilidade e resistência do tecido conectivo (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Segundo Koohmaraie e Geesink (2006), os três fatores que determinam a maciez da carne são a *background toughness* (dureza intrínseca), a *toughening phase* (fase de *rigor mortis*) e a *tenderization phase* (fase pós-*rigor*). Enquanto as duas últimas fases, dependentes principalmente das proteínas miofibrilares, ocorrem durante o período de armazenamento *post mortem*, a dureza intrínseca existe no momento do abate e não muda durante o período de armazenamento. A dureza intrínseca da carne é definida como a resistência ao cisalhamento do músculo não encurtado, sendo sua variação devida ao componente do tecido conjuntivo do músculo. Na fase de *rigor mortis* ocorre um aumento progressivo da dureza e, paralelamente, uma diminuição da extensibilidade do músculo esquelético, causada pelo encurtamento do sarcômero. Para a carne bovina, este processo geralmente ocorre dentro das primeiras 24 horas *post mortem*. Embora a fase de endurecimento do músculo seja semelhante em todas as carcaças sob condições de processamento semelhantes, a fase de *post rigor mortis*, essencial para a produção de carne mais macia, é altamente variável. Isso gera uma grande variação, tanto na taxa quanto na extensão do amaciamento *post mortem* da carne, o que resulta na inconsistência da percepção da maciez da carne detectada pelo consumidor.

A maciez pode ser avaliada por métodos objetivos ou por métodos subjetivos (VAN WEZEMAEL et al., 2014). Os métodos instrumentais (métodos objetivos) permitem a comparação dos diferentes tratamentos, bem como determinar o seu efeito sobre uma determinada característica, mas não

fornecem informações relativas a aceitabilidade do produto ou preferência por um tipo de carne. Já o método subjetivo é feito através de análise sensorial, que pode ser feita com um painel de provadores treinados ou não (consumidores), sendo, no entanto, um método mais caro e que implica na demanda de mais tempo para ser executado (DESTEFANIS et al., 2008).

O método laboratorial mais utilizado para medir a maciez da carne instrumentalmente, é através da determinação da força de cisalhamento, utilizando a lâmina tipo *Warner-Bratzler*, acoplada a um texturômetro. No entanto, as correlações entre os valores encontrados pela determinação da força de cisalhamento e pela avaliação sensorial de maciez da carne são altamente variáveis (VAN WEZEMAEL et al., 2014).

2.2.1 Proteólise *post mortem* (maturação)

O processo de maturação consiste no acondicionamento da carne *in natura* à temperatura de refrigeração (0 a 4 °C), acima do seu ponto de congelamento (-1,5 °C), por um período de 10 a 21 dias, tendo como objetivo, não apenas melhorar a maciez da carne, mas também conferir sabor característico pela ação proteolítica de enzimas naturalmente presentes no músculo (AROEIRA, 2014; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Olson, Parrish e Stromer (1976), avaliando o efeito de diferentes tempos de maturação (1, 2, 3, 6, 7, 10 e 13 dias *post mortem* a 2 °C), na fragmentação miofibrilar dos músculos bovinos *longissimus*, *semitendinosus* e *psaos major*, observaram um aumento dos valores de índice de fragmentação miofibrilar à medida que aumentava o período de maturação.

A contribuição da proteólise *post mortem* para o amaciamento da carne é regulada predominantemente, pelos níveis de proteases no músculo no momento do abate, durante a maturação pós-rigor, bem como também pela atividade das

enzimas proteolíticas durante a maturação (WARNER et al., 2010). Dois sistemas enzimáticos fazem parte da maturação *post mortem*, sendo eles: o sistema das calpaínas e as catepsinas lisossomais (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006). Entretanto, não só esses sistemas estão sendo estudados por fazerem parte da maturação da carne, as caspases e o proteosoma, associados ao processo de apoptose celular, também estão sendo estudados por contribuírem para a proteólise *post mortem* (BARÓN, 2016).

O sistema das calpaínas é considerado o principal responsável pela *proteólise post mortem* das principais proteínas miofibrilares (NOWAK, 2011). As calpaínas são proteases ativadas pelo cálcio e com atividade ótima em pH neutro (7,0 a 7,5). No músculo esquelético, o sistema de calpaínas consiste em três proteases: a μ -calpaína, que requer de 5 a 100 $\mu\text{mol/L}$ de cálcio para sua ativação; a m-calpaína, que requer cerca de 1000 $\mu\text{mol/L}$ de cálcio para sua ativação; e a calpaína p94 ou calpaína 3, que requer de 3000 a 4000 $\mu\text{mol/L}$ de Ca^{+2} para atingir sua atividade máxima, sendo esta, exclusiva do músculo esquelético. Além disso, faz parte do sistema das calpaínas o inibidor específico da μ e m-calpaína, denominado de calpastatina (GOLL et al., 1991; GOMIDE et al., 2013; KOOHMARAIE; GEESINK, 2006). Dentre as três proteases do sistema de calpaínas, a μ -calpaína é considerada a principal responsável pelo favorecimento da maciez durante o armazenamento *post mortem*, sendo a proteólise *post mortem* iniciada por ela (KOOHMARAIE et al., 1987).

As calpaínas possuem um importante papel na maturação da carne, no entanto, o efeito do seu inibidor, a calpastatina, apresenta uma grande correlação com a maciez da carne armazenada a 1 °C, determinada 24 horas *post mortem*, em que sua atividade está relacionada com a maciez final da carne. As quantidades de calpaínas e calpastatinas no músculo, dependem das espécies animais, raça, tipo de músculo, e da sua atividade, além de fatores como pH, temperatura e concentração de cálcio (AROEIRA, 2014). Koohmaraie et al.

(1991) relataram uma influência do sistema das calpaínas e de seu inibidor específico (calpastatina), sobre a proteólise *post mortem*, caracterizando a relação calpastatina/calpaína como fator determinante na maciez da carne.

As proteínas que são degradadas durante a maturação pelas enzimas proteolíticas são as proteínas miofibrilares e citoesqueléticas, que incluem as troponinas (I, C e T), desmina, vinculina, meta-vinculina, distrofina, nebulina, titina, α -actinina, tropomiosina, proteína C e a linha Z (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013; KOOHMARAIE; GEESINK, 2006). Segundo Taylor et al. (1995), três estruturas citoesqueléticas são degradadas quando a carne é amaciada: linha Z a linha Z, ligadas pelos filamentos intermediários; linha Z e linha M, ligadas ao sarcolema pelas proteínas costaméricas e; degradação do filamentos elásticos de titina.

As proteínas miofibrilares actina e miosina não são degradadas pelo sistema das calpaínas, mas as catepsinas podem atuar sobre elas. Contudo, essa degradação só ocorre em valores de pH abaixo de 5,5 ou em temperaturas elevadas (25-35 °C), condições improváveis para o armazenamento da carne *in natura* (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

A desmina é possivelmente um substrato chave que determina a maciez da carne (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006). Ela liga uma miofibrila a outra, na altura da linha Z, e é um componente estrutural muito importante na fibra muscular, sendo um substrato das calpaínas (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005). A extensão da degradação da desmina durante a maturação é indicativo do grau de proteólise que ocorreu na carne (STARKEY et al., 2015). Rhee et al. (2004) não observaram uma correlação significativa entre a degradação da desmina e a maciez (sensorial e força de cisalhamento) do músculo *biceps femoris*. Entretanto, esses autores encontraram uma correlação significativa para o *longissimus thoracis*, permitindo afirmar uma degradação diferenciada da desmina em função dos músculos analisados.

As proteínas associadas à defesa do organismo, conhecidas como *Heat Shock Proteins* (HSP), estão sendo estudadas recentemente, por fazerem parte do processo de amaciamento da carne. Dentre elas tem-se o proteasoma, que é um complexo de proteases multicatalítico envolvido na regulação de uma série de vias nos processos celulares básicos, estando presente em abundância no músculo esquelético. Assim, tem-se o proteasoma (26S), que é constituído por uma subunidade reguladora (19S) e uma estrutura multicatalítica (20S) que contém a atividade das enzimas proteolíticas; e o proteasoma 20S, também conhecido como complexo de proteinase multicatalítico (MCP), que é o núcleo catalítico do complexo de proteasoma. Já as caspases são uma família de peptidases de cisteína caracterizadas pela sua capacidade de hidrolisar proteínas nos resíduos do ácido aspártico. Sua principal função é a contribuição para a apoptose celular (morte celular programada). Existem hipóteses que o processo de abate e sangria pode dar início às vias de apoptose, pela ativação das caspases, contribuindo para a proteólise *post mortem* e, conseqüentemente, para a maciez da carne (BARÓN, 2016).

Um dos métodos bastante utilizado para determinar o grau de fragmentação das miofibrilas durante o *post mortem* é o índice de fragmentação miofibrilar (IFM), sendo usado como um índice para determinar a maciez da carne, bem como o amaciamento *post mortem* (DAVEY; GILBERT, 1969). De forma indireta, o índice de fragmentação é usado para medir a atividade do sistema enzimático calpaína e calpastatina, de modo que menores valores de IFM indicam maior degradação miofibrilar e, portanto, carnes mais macias (AROEIRA et al., 2016; RAMOS; GOMIDE, 2007). Taylor et al. (1995) relatam que o MFI tem sido utilizado para estimar a degradação *post mortem* da linha Z, durante a maturação. Riley et al. (2005) encontraram uma correlação positiva entre o índice de fragmentação miofibrilar e a força de cisalhamento de amostras de carne de animais Brahman maturadas por 7, 14 e 21 dias.

2.2.2 Tecido Conectivo

O tecido conectivo, também conhecido como tecido conjuntivo fibroso ou tecido conjuntivo propriamente dito forma uma mecha contínua que envolve o músculo e as fibras musculares, contribuindo para as propriedades qualitativas e quantitativas da carne (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). O tecido conectivo recebe diferentes nomes a partir da sua localização no músculo. Assim, o tecido que envolve as fibras musculares é denominado de endomísio, enquanto o que envolve os feixes de fibras musculares é chamado de perimísio, além do tecido conjuntivo que recobre todo o músculo que é chamado de epimísio (BAILEY, 1972).

O colágeno é o principal componente do tecido conectivo intramuscular (HOPKINS et al., 2013) e, a elastina, também compõe as proteínas desse tecido, entretanto, em menor concentração (BAILEY, 1972). Diversos estudos (STARKEY et al., 2016; STARKEY et al., 2015; TORRESCANO et al., 2003; DRANSFIELD, 1977) têm avaliado a sua relação com a maciez da carne. Dransfield (1977) mostrou claramente a correlação entre o conteúdo de colágeno e a dureza do músculo. Young e Braggins (1993) relataram que o teor de colágeno está associado à sensibilidade da maciez medida através de um painel sensorial, e que a sensibilidade medida através da força de cisalhamento (método objetivo) está relacionada com a solubilidade do colágeno.

Liu, Nishimura e Takahashi (1996) relatam que o conteúdo de colágeno é um fator importante para determinar a dureza/maciez da carne. Torrescano et al. (2003) encontraram correlação positiva entre a força de cisalhamento e o conteúdo de colágeno total e o conteúdo de colágeno insolúvel em vários músculos de animais taurinos. Riley, Johnson e Chase (2005) observaram uma correlação entre o teor de colágeno insolúvel e a força de cisalhamento, onde um

aumento de 1 mg no teor de colágeno insolúvel estava associado a um aumento de 5,0 N nos valores da força de cisalhamento de contrafilés maturados por 14 dias.

A princípio, a contribuição do tecido conectivo para a textura da carne está associada ao desenvolvimento das ligações cruzadas da molécula de colágeno, bem como pela sua concentração (WARNER et al., 2010). A concentração de colágeno não altera significativamente durante o crescimento até o abate, mas a solubilidade do mesmo diminui com o peso e a idade do animal (TORRESCANO et al., 2003), sendo também afetada pelo sexo e o tipo de músculo (STARKEY et al., 2016). Segundo Hopkins et al. (2013), a solubilidade térmica do colágeno está relacionada à concentração de ligações cruzadas da molécula, ou seja, à medida que o animal amadurece, as ligações cruzadas covalentes entre as fibrilas de colágeno tornam-se estáveis ao calor, e estas ligações aumentam significativamente a dureza da carne (MCCORMICK, 1994). Assim, um dos métodos amplamente utilizados para avaliar a textura da carne é através do grau de solubilidade do colágeno, sendo que a porcentagem de colágeno solúvel está relacionada com as variações na maciez quanto à idade do animal, maturação *post mortem* e outras condições de processamento (NAVEENA; MENDIRATTA; ANJANEYULU, 2004).

Os músculos contêm somente uma pequena quantidade de colágeno (2 - 10% da matéria seca), no entanto, este inflexível componente fibroso do tecido conectivo não exerce influência somente na dureza da carne, mas também, encontra-se envolvido no encolhimento do músculo e, portanto, nas perdas de líquido durante o cozimento (OLIVEIRA; SOARES; ANTUNES, 1998).

No entanto, há evidências de que durante o processo de maturação *post mortem* da carne ocorra a transformação do tecido conectivo, que se torna mais solúvel pela ação das enzimas catepsinas, em especial na região não helicoidal terminal da molécula de colágeno nativo, junto às ligações cruzadas

intermoleculares. As catepsinas são proteases de cisteína, da família das papaínas, e se encontram retidas nos lisossomos, sendo as catepsinas B, L, N e S capazes de clivar o colágeno nativo insolúvel em fragmentos solúveis (OLIVEIRA; SOARES; ANTUNES, 1998; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Segundo Stanton e Light (1987), existem diferenças entre a solubilidade do colágeno durante a maturação decorrente das variações no tamanho das fibras e feixes de fibras das moléculas de colágeno existentes entre os músculos, que conduzem à maior ou menor eficiência das enzimas colagenolíticas na degradação das fibras dessa proteína.

Para determinar o teor de colágeno presente na carne e nos produtos cárneos, utiliza-se métodos de quantificação espectrofotométricos do aminoácido hidroxiprolina, por ser exclusivo da molécula de colágeno uma vez que os aminoácidos que perfazem 65% da molécula de colágeno, além da hidroxiprolina, são glicina, prolina e alanina. Essa proteína é totalmente carente de cisteína e triptofano (DE PAULA, 2013).

2.2.3 Comprimento do Sarcômero

A unidade funcional das miofibrilas, denominada de sarcômero, é formada por uma banda A e duas metades de banda I, sendo a unidade básica em que os eventos de contração e relaxamento muscular se processam. A banda A é composta pelos miofilamentos finos (actina) e grossos (miosina) e a banda I, que é dividida em duas meias bandas pela linha Z, é composta apenas de actina. Já a linha Z conecta os miofilamentos de actina de cada lado do sarcômero (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Durante a contração muscular, os miofilamentos finos (actina) deslizam sobre os miofilamentos grossos (miosina) causando o encurtamento do

sarcômero, de modo que à medida que este diminui, aumenta-se a resistência da carne e diminui a sua maciez (AROEIRA, 2014). Starkey et al. (2016) relataram que um aumento no comprimento do sarcômero leva à uma redução na força de cisalhamento, de modo que a cada 1 μm de aumento no comprimento do sarcômero, a força de cisalhamento reduz 15,2 Newtons, sendo 1 μm a diferença entre os músculos extremamente duros (1,2 μm) e extremamente macios (2,2 μm). Marsh e Leet (1966) relataram que a dureza máxima do tecido se desenvolve quando se tem um encurtamento do sarcômero próximo de 40%. Rhee et al. (2004), trabalhando com músculo *longissimus* bovino maturado por 14 dias *post mortem*, observaram um decréscimo nos valores da força de cisalhamento com o aumento do comprimento do sarcômero. Durante a maturação, o sarcômero tende a se alongar devido à perda da capacidade de manter a tensão isométrica do músculo e, ou, uma modificação do complexo actomiosina (JEREMIAH; MARTIN, 1978).

O fenômeno de encurtamento pelo frio e o comprimento do sarcômero, têm sido relacionados (HWANG et al., 2003) com a dureza da carne, sendo influenciados diretamente pela taxa de temperatura durante o desenvolvimento do *rigor mortis*. Assim, se a queda da temperatura é demasiadamente rápida (WARNER et al., 2010) há comprometimento da capacidade de algumas organelas sarcoplasmáticas em reter o cálcio, que é então, liberado no sarcoplasma de maneira descontrolada e, na presença de ATP, propicia forte contração. A atividade contrátil produz o encurtamento do sarcômero severo das fibras, caracterizando o encurtamento pelo frio e, reduzindo, assim, a maciez da carne (ZEOLA et al., 2007).

No entanto, tem-se também o encurtamento pelo calor, também conhecido como encurtamento pelo rigor, que acontece quando a queda da temperatura é muito lenta e a glicólise é rápida, o contrário do encurtamento pelo frio, causando também, um encurtamento severo do sarcômero que,

consequentemente, dará origem a uma carne mais dura (WARNER et al., 2010). Uma vez que ocorre o *rigor*, o comprimento do sarcômero geralmente não muda com a maturação (KOOHMARAIE; DOUMIT; WHEELER, 1996), por isso, que para minimizar esses encurtamentos pelo frio, principalmente, utiliza-se a estimulação elétrica e os métodos de pendura.

2.3 Irradiação de alimentos

A irradiação de alimentos consiste em expor o mesmo à radiação ionizante. Partículas carregadas de alta energia tais como elétrons ou fótons de elevada energia, raios X e raios gama são exemplos de radiação ionizante (MARIANO, 2004).

Assim, pode-se definir irradiação ionizante como qualquer tipo de radiação que ioniza átomos de matérias a ela submetidos, sendo considerado apenas aqueles com energia inferior ao limiar das reações nucleares (PEREIRA, 2004). Segundo Potter (1968), as radiações ionizantes podem ser classificadas como partículas (alfa e beta) e como ondas eletromagnéticas (raios gama e raios X).

Os raios gama se destacam entre os outros tipos de radiação ionizante, por serem eficientes na destruição dos microrganismos nos alimentos, pois tem um alto conteúdo de energia e grande penetração e letalidade devido a sua ação em nível celular. Sua penetração é instantânea, uniforme e profunda. São ondas de curto comprimento similares à luz ultravioleta e as micro-ondas, sendo geradas por isótopos radioativos como o Cobalto 60 (^{60}Co) e Césio 137 (^{137}Cs) (PASSOS, 2009).

Ao irradiar um alimento, deseja-se utilizar radiações que tenham uma boa penetração, de maneira que afete todo o conteúdo e não só os microrganismos e enzimas que ficam na superfície do alimento. Por outro lado, não se deseja

utilizar radiações, como os nêutrons, de alta energia, pois adicionalmente, poderiam deixar o alimento radioativo (POTTER, 1968).

Segundo Miyagusku et al. (2003), anos de pesquisa chegaram a um consenso sobre a aplicação de diferentes doses de irradiação para finalidades diversas, principalmente a irradiação de alimentos. A radapertização é o processo que utiliza doses elevadas (>10 kGy) de radiação, sendo utilizado para esterilizar os alimentos; a radicidação utiliza-se doses médias (1-10 kGy) de radiação e têm efeito de pasteurização, aumentando a vida útil do produto e; a radurização utiliza-se doses baixas (<1 kGy) de radiação, sendo eficaz para o controle de microrganismos em carnes frescas ou no amadurecimento de vegetais, e ainda destrói insetos e parasitas de grãos e frutas (MARIANO, 2004).

A irradiação de alimentos possui os mesmos benefícios que os tratamentos a quente ou a frio, o congelamento e o tratamento com produtos químicos. O processo é utilizado para inativação de microrganismos, vírus e, ou, insetos, impedindo a germinação ou brotamento de batatas, cebolas e alho, retardando o amadurecimento e envelhecimento de frutas e hortaliças, prolongando a vida útil, reduzindo agentes patogênicos e, assim, protegendo a saúde do consumidor (PARLATO et al. 2014). Outra vantagem da radiação é a sua flexibilidade, permitindo sua aplicação em grande diversidade de alimentos de formas e tamanhos diferentes (ANDRADE, 2013).

O uso da irradiação é limitado, mas autorizado em muitos países, e formalmente aprovado em 55 países ao redor do mundo (PARLATO et al. 2014). Segundo Kume e Todoriki (2013), a irradiação de alimentos mostrou uma ampla propagação da técnica em todo o mundo. Dados do ano de 2010 indicam que cerca de 285.223 toneladas de produtos alimentares foram irradiadas na Ásia, 103.000 toneladas nos Estados Unidos e 9.264 toneladas na União Europeia.

2.3.1 Legislação

A irradiação é um processo que vem sendo estudado há vários anos, tendo o seu emprego regulamentado pela *Food and Drug Administration* (FDA), desde 1963, para farinha de trigo e trigo destinados a alimentação humana, e suas aplicações têm sido guiadas sob as regras das Boas Práticas de Fabricação (BPF's). Em seguida, nas décadas de 80 e 90, novas regulamentações surgiram com intuito de estender a utilização desta tecnologia para outros alimentos (ORNELLAS et al., 2006). No entanto, a utilização da radiação ionizante na conservação de alimentos surgiu após a descoberta dos Raios X, por Roentgen, e da radioatividade por Becquerel, em aproximadamente, 1895 (OLIVEIRA; SOARES; ALVES, 2012). Porém, somente em 1990 a FDA aprovou a irradiação de frango para controlar patógenos de origem alimentar. Em 1997, esse mesmo órgão aprovou o uso da irradiação em carnes vermelhas resfriadas e congeladas (ANDRADE, 2013).

No Brasil, as primeiras pesquisas com irradiação de alimentos foram feitas da década de 50, pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA). Mesmo sendo permitida desde 1985, a irradiação para conservação de alimentos era utilizada apenas em estudos que se restringiram quase que exclusivamente às instituições de pesquisas, uma vez que o país contava com um número restrito de especialistas (OLIVEIRA; SOARES; ALVES, 2012).

A primeira legislação brasileira para alimentos irradiados foi o Decreto nº 72718, de 29 de agosto de 1973 (BRASIL, 1973), que, posteriormente, foi complementada pelas Portarias nº 9, de 08 de março de 1985 e nº 30, de 25 de setembro de 1989 (BRASIL, 1985, 1989). No ano de 2001, essas Portarias foram revogadas pela Resolução - RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), quando foi aprovado o 'Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos', que está vigente até os dias atuais. A legislação

brasileira segue as recomendações internacionais sugeridas pela *Food and Agriculture Organization* (FAO), *International Atomic Energy Agency* (IAEA) e *Codex Alimentarium* da ONU (ORNELLAS et al., 2006).

Assim sendo, segundo a Resolução nº 21, de 26 de janeiro de 2001, irradiação de alimentos é um processo físico de tratamento que consiste em submeter o alimento, já embalado ou a granel, a doses controladas de radiação ionizante, com finalidade sanitária, fitossanitária e, ou tecnológica. Ainda segundo o Regulamento, a irradiação pode ser aplicada em qualquer alimento, com a condição de que a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida, e a dose máxima absorvida deve ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e, ou, os atributos sensoriais do alimento (BRASIL, 2001).

2.3.2 Efeitos da radiação em carnes

A irradiação é um processo reconhecido como um método seguro e eficaz entre as tecnologias existentes para a conservação de carnes. A irradiação de carnes frescas estende a vida útil do produto, além de garantir aos consumidores a segurança alimentar (AL-BACHIR; ZEINOU, 2014).

A comercialização de alimentos irradiados, incluindo carnes frescas, tem sido limitada, principalmente, devido aos receios dos consumidores quanto à segurança do processo. Esses temores são infundados com mais de 50 anos de investigação, que mostram que o método é seguro e obtém aprovação de inúmeros órgãos de saúde e de agricultura (MILLAR et al., 2000).

Todavia, a radiação ionizante gera radicais livres, que podem induzir a oxidação lipídica e outras mudanças indesejáveis no sabor, no aroma e na cor da carne, dificultando a difusão da comercialização da carne fresca irradiada (DU et al., 2000; MILLAR et al., 2000). No entanto, estudos realizados por Kanatt,

Chawla e Sharma (2015) e Yook et al. (2001) mostram que a irradiação tem efeito positivo na maciez da carne, reduzindo sua dureza.

Yoon (2003) relata que um dos motivos da causa do amaciamento da carne, quando ela é exposta à radiação, é devido à ruptura física das miofibrilas. Entretanto, os efeitos da radiação sobre a proteólise e consequente maciez da carne ainda são escassos.

Segundo Horowitz et al. (1986) e Yook et al. (2001), o processo de irradiação pode degradar as proteínas desmina, nebulina e titina, favorecendo a maciez da carne e provocando o alongamento do sarcômero devido à degradação das proteínas actina e miosina pela radiação gama. Yook et al. (2001) observaram em seu estudo, que as amostras irradiadas com 3 e 5 kGy (1,72 e 1,80 μm , respectivamente) apresentaram comprimentos do sarcômero maiores que a amostra não irradiada (1,33 μm).

Kanatt, Chawla e Sharma (2015) observaram uma acentuada redução da força de cisalhamento à medida que as carnes eram irradiadas com maiores doses de radiação (0, 2,5, 5 e 10 kGy), sendo que esse efeito foi mais pronunciado na carne de búfalo. Estes autores também observaram um aumento na solubilidade da molécula de colágeno com o aumento da radiação, o que, provavelmente, também contribuiria para a percepção de maciez sensorial da carne. O processo de irradiação aumenta a solubilidade da molécula de colágeno devido à ruptura das ligações peptídicas que formam a molécula, levando à formação de fragmentos de baixo peso molecular que são mais solúveis (BAILEY; RHODES, 1964; BAILEY; RHODES; CATER, 1964).

Yook et al. (2001), trabalhando com músculos *sternomandibularis* bovino, observaram que a força de cisalhamento um dia (a 4 °C) após a irradiação a 5 kGy, foi menor nas amostras irradiadas do que nas não irradiadas. No entanto, Grozdanov et al. (1982), trabalhando com músculo *semimembranosus* bovino, desossado a quente (antes da refrigeração) e

refrigerado, embalados a vácuo e irradiados com 3 kGy, não observaram diferenças significativas entre estes imediatamente depois da irradiação e os controles irradiados. Estes autores não detectaram alterações induzidas por radiação no metabolismo *post mortem*, nem a aceleração da degradação da adenosina trifosfato (ATP). Yoon (2003), avaliando o efeito da radiação gama sobre a maciez de peitos de frango, relatou que as amostras irradiadas apresentaram uma força de cisalhamento maior que as amostras não irradiadas.

Esse aumento na força de cisalhamento causado pela radiação gama pode ser devido à ação negativa desse processo sobre a fragmentação miofibrilar da carne, pois o sistema de calpaínas (μ e m-calpaínas), que são as principais responsáveis pela proteólise *post mortem* durante a maturação, possuem resíduos de histidina e resíduos sulfurados de cisteína nos seus sítios ativos, portanto, requerem condições redutoras para apresentarem atividade ótima. Assim, o processo de irradiação leva a condições oxidantes no músculo, devido à formação de radicais livres (radiólise da molécula de água), fazendo com que a histidina seja convertida a derivados carbonílicos, e a cisteína forme pontes dissulfídricas, levando à constituição de ligações intra ou intermoleculares que, embora não inibam totalmente sua autólise, promove a redução da atividade enzimática. Como consequência, a proteólise *post mortem* (maturação) da carne é prejudicada (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013; NAM; AHN, 2003), e uma menor fragmentação miofibrilar dará origem a uma carne menos macia (força de cisalhamento maior).

Para minimizar os efeitos indesejáveis da radiação sobre a qualidade da carne é sugerido que se irradie carnes congeladas, pois, segundo Brewer (2004), a água é alvo de elétrons altamente energizados, e a radiólise da molécula de água pode gerar uma variedade de espécies reativas (Figura 1). A dispersão desses íons e radicais livres é maior quando a água livre está na forma líquida, no entanto, será menor quando a água livre estiver limitada (produtos secos) ou

congelada. Assim, quando a água é congelada, os radicais livres tendem a se recombinar, formando a substância original, pois sua difusão é reduzida e seu acesso a outros componentes do alimento será limitado.

Quando alimentos ricos em gorduras, como a carne e seus derivados, são expostos à radiação gama, pode ocorrer a formação de radicais livres durante o processo (AHN et al., 1998), devido à radiólise das moléculas de água, com consequente oxidação lipídica da carne, que tende a aumentar com o tempo de armazenamento. O hexanal é um bom indicador de oxidação lipídica na carne (AHN; NAM, 2004), sendo um composto que contribui para o odor desagradável da carne.

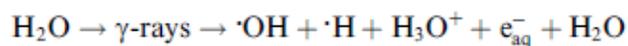


Figura 1 Radiólise da molécula de água e as espécies reativas formadas.

Fonte: Brewer (2004).

Os radicais livres gerados durante o processo de irradiação não causam somente a oxidação lipídica, mas também a radiólise dos aminoácidos presentes na carne, e a degradação desses compostos é a principal causa da formação do odor desagradável da carne irradiada, que pode produzir um odor de repolho, enxofre, pútrido e, ou, semelhante a vegetal estragado (BREWER, 2009; NAM et al., 2003).

Yang et al. (2011) relataram que toda carne irradiada produz um odor característico da radiação, independentemente do grau de oxidação lipídica. Os compostos responsáveis pelo odor indesejável são os compostos de enxofre, como o dimetil sulfeto, dimetil dissulfeto e dimetil trissulfeto, oriundos da degradação radiolítica das proteínas.

Além da radiólise das proteínas dar origem a compostos de sabor desagradável, a radiação pode causar danos nas proteínas, que incluem a

desaminação (com produção de ácido propiônico e pirúvico), a descarboxilação (com produção de etilamina e acetaldeído), a redução de ligações dissulfeto, a oxidação de grupos sulfidrilas, a hidrólise de ligações peptídicas e alterações na valência dos íons metálicos presentes nas enzimas. Os principais produtos formados pela interação do processo de irradiação com o material proteico são os grupos carbonílicos, amônia, aminoácidos livres, peróxido de hidrogênio, peróxidos orgânicos e outros. Quando se utiliza altas doses, algumas ligações cruzadas podem ocorrer levando à formação de novas proteínas pela ligação de aminoácidos livres com proteínas e pela agregação de proteínas. Essas mudanças citadas acontecem, principalmente, com a estrutura primária das moléculas de proteínas, entretanto o processo de irradiação pode afetar as estruturas secundárias e terciárias também (GIROUX; LACROIX, 1998).

A radiação gama tem efeito sobre a capacidade de retenção de água (CRA) da carne. Segundo Kanatt, Chawla e Sharma (2015), ao irradiar a carne, ocorre diminuição da sua CRA. Esses mesmos autores relatam que a queda na CRA é dose-dependente, ou seja, quanto maior a dose aplicada em carnes irradiadas menor será a CRA, que pode ser explicada pela ruptura das membranas das fibras e, ou, desnaturação das proteínas da carne.

Quanto à coloração da carne irradiada, alterações no ambiente químico, associados à suscetibilidade da molécula de mioglobina, especialmente o ferro heme, levam a mudanças na coloração da carne (BREWER, 2004). Entretanto, as alterações induzidas pela radiação diferem dependendo da espécie animal, tipo de músculo, dose de radiação e tipo de embalagem (AHN et al., 1998).

A irradiação de carne fresca bovina e suína pode resultar na formação de uma coloração amarronzada, esverdeada ou vermelho brilhante. Dentre os tipos de carne, a carne bovina é a que apresenta maior suscetibilidade a mudanças na coloração, quando irradiada. Muitas vezes, sua coloração pode mudar para um castanho acinzentado ou um esverdeado pouco atraente (NAM et al., 2003).

Segundo Brewer (2004), a geração de pigmentos vermelhos estáveis ou de pigmentos marrons, que ao longo do tempo se tornam vermelhos, parece ser devido à ligação de espécies reativas do oxigênio (O_2^-) ou gases (CO) gerados pela radiação, como ligantes na sexta posição quando o estado do ferro é reduzido. Quando a irradiação é realizada em ambientes com presença de oxigênio, a geração de grandes quantidades do pigmento de metamioglobina parece ser uma aceleração do processo normal de oxidação da mioglobina. A geração de pigmentos esverdeados pode ser em decorrência da degradação do anel de porfirina e, ou, a formação da sulfomioglobina, pigmento resultante da reação do sulfeto de hidrogênio (H_2S) e o oxigênio.

2.4 Efeito do congelamento em carnes

A aplicação do congelamento para a preservação de alimentos é uma técnica utilizada há vários anos, para manter a sua qualidade durante o armazenamento, distribuição e venda (HANENIAN; MITTAL, 2004).

Assim como a refrigeração, o congelamento utiliza o decréscimo de temperatura para prolongar o período de conservação dos alimentos. Porém, as temperaturas empregadas no congelamento são muito mais baixas que as usadas na refrigeração, e a diferença essencial entre ambos os métodos é a formação de cristais de gelo no interior dos alimentos (MACHADO, 2009).

O congelamento da carne inicia-se pela cristalização da água nos espaços extracelulares devido a menor concentração de solutos que no fluido intracelular (MACHADO, 2009). Assim, a velocidade do congelamento desempenha um papel crucial na determinação do tamanho e localização desses cristais de gelo dentro do tecido de carne congelada, que, posteriormente, irá influenciar na qualidade da carne descongelada. Quando o congelamento é lento, a cristalização extracelular, que aumenta a concentração local de solutos, provoca

por osmose, uma desidratação progressiva das células. Formam-se grandes cristais de gelo e aumentam-se os espaços extracelulares. Além disso, um dano mecânico à célula, em razão da formação de grandes massas de gelo e do encolhimento das fibras musculares, que perdem água para os acúmulos extracelulares. Este deslocamento de água explica, em grande parte, a exsudação que se observa ao descongelar a carne. Esse tipo de congelamento causa danos consideráveis nas estruturas das proteínas musculares e nas membranas celulares (KIM et al., 2015; AROEIRA, 2014; MACHADO, 2009).

Quando o congelamento é rápido, a cristalização ocorre quase simultaneamente nos espaços extracelulares e no interior das células. O deslocamento de água é pequeno e são produzidos pequenos cristais de gelo, que são distribuídos uniformemente no meio intracelular, fazendo com que os danos causados pelos cristais de gelo sejam menores (KIM et al., 2015; MACHADO, 2009).

Segundo Leygonie, Britz e Hoffman (2012), os processos de congelamento e descongelamento influenciam principalmente as frações de água da carne, uma vez que a água está contida dentro e entre as fibras musculares, complicando o processo. Quando a água congela, a concentração dos solutos restantes (proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas e minerais) aumenta, perturbando assim, a homeostasia do sistema complexo, que é a carne. As alterações no ambiente ao redor das fibras musculares afetam as características das membranas celulares, o que por sua vez, afeta a qualidade da carne.

A técnica de congelamento da carne oferece um produto com qualidade nutricional semelhante à da carne fresca, comparando-se com outros processos. No entanto, ele pode alterar as características sensoriais da carne como a textura, a cor, o sabor, aparência e contagem microbiológica (LEYGONIE; BRITZ; HOFFMAN, 2012; ABDALLAH; MARCHELLO; AHMAD, 1999).

Existe um consenso geral na literatura de que a maciez da carne bovina aumenta com o processo de congelamento e descongelamento (AROEIRA et al., 2016; GRAYSON et al., 2014; KIM et al., 2015; LAGERSTEDT et al., 2008; FAROUK; WIELICZKO, 2003).

Segundo Crouse e Koohmaraie (1990), o congelamento da carne antes da sua maturação contribui para a maciez da carne, pois pode aumentar a proteólise *post mortem* durante a maturação, originária, provavelmente, da perda da atividade do inibidor das proteases cálcio-dependentes.

Vieira et al. (2009) relatam que o mecanismo de amaciamento da carne é devido a uma combinação da degradação das fibras musculares por ação enzimática durante a proteólise no processo de maturação, e a perda da integridade estrutural causada pela formação dos cristais de gelo. A formação de cristais de gelo no meio extracelular rompe a estrutura física em grande parte, degradando as miofibrilas e aumentando a maciez da carne. Já a formação de cristais de gelo no meio intracelular aumenta as taxas de maturação, provavelmente devido à liberação de proteases.

Koohmaraie (1990) e Whipple e Koohmaraie (1992) observaram maior suscetibilidade à inativação da calpastatina na carne bovina quando submetida a temperaturas de congelamento, enquanto a atividade das calpaínas era relativamente estável. Estes autores sugeriram que o congelamento e descongelamento da carne possibilitaria o favorecimento da atividade proteolítica das calpaínas durante a maturação e, conseqüentemente, a maciez da carne.

O efeito do congelamento sobre a maciez da carne pode ser mais pronunciado quando a mesma é maturada após ser descongelada, pois a maturação prolongada à ação das enzimas naturalmente presentes na carne, em especial as calpaínas, levam à proteólise do componente miofibrilar

(KOOHMARAIE, 1994), e como já foi dito, o congelamento/descongelamento favorece a atividade dessas enzimas.

Aroeira et al. (2016) observaram em seu estudo, que o congelamento favoreceu a proteólise durante a maturação nas carnes de animais Nelore e Aberdeen Angus, sendo observada uma redução na força de cisalhamento somente nas carnes dos animais taurinos e no tempo zero de maturação. Estes resultados fizeram com que os autores concluíssem que o amaciamento na carne pelo congelamento prévio à maturação pode ser uma alternativa para resolver o problema de inconsistência na maciez, mas é dependente do genótipo animal.

Grayson et al. (2014) observaram uma maior degradação da proteína desmina nas amostras maturadas após descongelamento do que nas amostras frescas (não congeladas), sugerindo que 25 a 35% da redução nos valores da força de cisalhamento do músculos *L. Lumborum*, congelados e maturados, é devido à proteólise, sendo o restante (75-65%) devido ao efeito do congelamento por si só.

Quanto à cor da carne, segundo Leygonie, Britz e Hoffman (2012), durante algum momento do congelamento, armazenamento congelado e também no descongelamento da carne, ocorre a desnaturação da globina presente na molécula de mioglobina. Essa desnaturação leva a um aumento da suscetibilidade da mioglobina à auto-oxidação e, conseqüentemente, à perda da coloração vermelho brilhante da carne.

Outro fator que pode influenciar a coloração da carne congelada e descongelada é o sistema de enzimas redutoras, definido como atividade de metamioglobina redutase (MRA). Depois que a mioglobina (Mb) é oxidada à metamioglobina (MMb), o sistema MRA, atua reduzindo a MMb em mioglobina, novamente. A MRA é classificada em NADH-citocromo b5 redutase. No entanto, o processo de congelamento e descongelamento da carne pode resultar

na inativação da MRA e, ou, a oxidação do NADH no músculo (ABDALLAH; MARCHELLO; AHMAD, 1999).

Na carne fresca, a atividade da MRA é alta, de modo que a MMb formada é rapidamente reduzida à deoximioglobina (Mb^+) e novamente oxigenada à forma de O_2Mb , caracterizando a cor vermelho brilhante. No entanto, à medida que a carne é maturada ou congelada, a atividade da MRA diminui a ponto de ocorrer o acúmulo de MMb na superfície da carne (ABDALLAH; MARCHELLO; AHMAD, 1999), pois, a MMb não é mais reduzida para mioglobina, porque os intermediários da redução, como o NADH, não são mais formados (O'KEEFFE; HOOD, 1982), devido à perda do NAD, causada pelo congelamento e descongelamento da carne (ABDALLAH; MARCHELLO; AHMAD, 1999).

O aumento da oxidação lipídica está associado à deterioração da cor em carne bovina (FAROUK; SWAN, 1998). Assim, na fase de iniciação da oxidação lipídica ocorre a formação de pró-oxidantes capazes de reagir com oximioglobina, que por sua vez, leva à formação da metamioglobina. Além da cor, a oxidação lipídica altera o sabor, o odor (LEYGONIE; BRITZ; HOFFMAN, 2012), o valor nutricional, e pode vir a formar compostos tóxicos para o organismo (HUANG et al., 2013).

O armazenamento da carne congelada por um longo período de tempo pode afetar a estabilidade oxidativa e as propriedades sensoriais da mesma (VIEIRA et al., 2009). A oxidação lipídica tende a aumentar com o aumento do tempo de armazenamento congelado, devido à permeabilidade da embalagem, quanto ao oxigênio, e o teor de gordura presente na carne (FAROUK; SWAN, 1998). Assim, durante o armazenamento congelado, os processos de oxidação são retardados, mas não cessam. Na verdade, alguns radicais solúveis em lipídeos podem ainda ser mais estáveis a temperaturas mais baixas e, assim, propagar a oxidação (HUANG et al., 2013).

Segundo Farouk et al. (2013), o pH final (pH_u) da carne é amplamente utilizado como um indicador de qualidade de carne, e as carcaças são frequentemente classificadas de acordo com seu pH_u . Resumidamente, carnes com o $\text{pH}_u < 5.8$ apresentam melhor palatabilidade e aceitação pelos consumidores, enquanto carnes de alto pH_u ($\text{pH}_u \geq 6.2$) são de cor mais escura e mais suscetíveis à deterioração microbiana, embora forneçam uma boa matéria-prima para fins de processamento.

O pH da carne também é afetado pelos processos de congelamento e descongelamento. Como o pH é mensurado a partir da quantificação dos íons livres de hidrogênio (H^+) em uma solução, é possível que o congelamento com subsequente produção de exsudado possa provocar a desnaturação de proteínas e a liberação de H^+ , com conseqüente queda do pH. Da mesma forma, a perda de fluido a partir dos tecidos da carne pode causar um aumento na concentração dos solutos, que resulta em uma diminuição do pH. Outra explicação para essa causa pode ser a desnaturação de proteínas por ação enzimática ou microbiana, fazendo com que íons de hidrogênio sejam liberados. Portanto, o pH da carne congelada e descongelada tende a ser menor do que aquele de carnes que não são submetidas previamente ao congelamento (LEYGONIE; BRITZ; HOFFMAN, 2011).

Outro efeito do congelamento e descongelamento é na umidade da carne, pois esses procedimentos aceleram a movimentação da água livre dos espaços intracelulares para os extracelulares, aumentando a perda por gotejamento, através de canais que são formados durante o encurtamento da rede de miosina no período *post mortem*. A perda por gotejamento é um parâmetro de qualidade importante, porque influencia na suculência e maciez da carne (LEYGONIE; BRITZ; HOFFMAN, 2011).

Vieira et al. (2009), relataram que a capacidade de retenção de água da carne tende a diminuir durante o congelamento, o armazenamento congelado e

também no descongelamento. Esse decréscimo na capacidade de retenção de água (CRA) ocorre pelo rompimento da estrutura das fibras musculares, bem como a modificação e, ou, desnaturação das proteínas (LEYGONIE; BRITZ; HOFFMAN, 2012; SAVAGE; WARRISS; JOLLEY, 1990). Segundo Kim et al. (2015), a perda de água no congelamento e no descongelamento é devido à formação dos cristais. No entanto, o congelamento lento causa mais danos celulares que o congelamento rápido, aumentando o exsudado e gerando maior perda de peso da carne durante o congelamento/descongelamento e o cozimento.

O congelamento pode causar a desnaturação ou oxidação das proteínas da carne e isso faz com que ocorra a redução da CRA, devido ao encolhimento dos espaços inter-filamentais, uma vez que as proteínas miofibrilares foram oxidadas e isso causa a agregação e coagulação da miosina e actina. Assim, os espaços extracelulares aumentam, diminuindo a força capilar que mantém a água retida nos espaços inter-filamentais e, conseqüentemente, aumenta a perda de exsudado da carne (LEYGONIE; BRITZ; HOFFMAN, 2012). Segundo Aroreira (2014), a concentração de solutos nos meios intra e extracelulares, causada pelo congelamento e o armazenamento congelado, leva à desnaturação de proteínas devido ao aumento da força iônica.

Em relação à atividade microbiológica, o congelamento tem um efeito positivo, pois ajuda a reduzir ou inativar os microrganismos (DAMEN; STEENBEKKERS, 2007). No entanto, o descongelamento é uma etapa preocupante quando se fala em contaminação microbiológica. Segundo Hanenian e Mittal (2004), medidas apropriadas devem ser utilizadas durante o descongelamento da carne, para evitar a contaminação. Tais medidas implicariam em aplicação de menores tempos de descongelamento, bem como um meio de descongelamento relativamente frio.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes) do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, Minas Gerais.

3.1 Delineamento experimental

O experimento foi realizado em esquema fatorial 2x4x2, em que os fatores foram os tratamentos (resfriamento e congelamento), dose de radiação (0, 3, 6 e 9 kGy) e tempo de maturação (1 e 14 dias). Os 16 tratamentos foram dispostos em um delineamento de blocos casualizados, com oito blocos (repetições), totalizando 128 unidades experimentais (UE). Os blocos foram constituídos por diferentes animais.

3.2 Obtenção e preparo das amostras

Amostras de contrafilés (músculos *Longissimus thoracis et lumborum*, LTL), esquerdo e direito, de oito bovinos da raça Nelore, com idade média de 30 meses e sistema de criação e condições de abates semelhantes, foram obtidas 48 horas *post mortem* diretamente de um matadouro-frigorífico com Inspeção Federal no estado de Minas Gerais.

Peças de aproximadamente 5,0 cm (unidade experimental, UE) de espessura foram obtidas, com o auxílio de um molde em cada contrafilé, pesadas, identificadas, embaladas a vácuo (embalagem de náilon-polietileno de 10 micrômetros de espessura), sendo as peças do contrafilé direito destinadas ao tratamento refrigerado (REFR) e as do contrafilé esquerdo destinadas ao tratamento congelado (CONG). As amostras destinadas ao tratamento REFR

foram conduzidas diretamente para a irradiação, enquanto as destinadas ao tratamento CONG foram primeiramente congeladas lentamente em freezer convencional (-18 °C/24 h) e, então, irradiadas. Para cada tratamento, as UEs foram aleatoriamente distribuídas nas doses de radiação.

As amostras foram armazenadas em caixas térmicas e conduzidas ao Irradiador Gama IR-214 (MDS Nordion; fonte de cobalto-60 e taxa de 1925,8 Gy/h) do CDTN/CNEN em Belo Horizonte, MG, onde foram submetidas a diferentes doses de radiação gama (3, 6 e 9 kGy), sendo que o processo de irradiação foi conduzido a temperatura ambiente. As amostras controles (0 kGy) foram mantidas nas mesmas condições de temperatura (em caixas térmicas e a temperatura ambiente) e por períodos de tempo similares às amostras irradiadas (cerca de 5 horas).

Após irradiação, as amostras foram conduzidas, em caixas térmicas a temperatura ambiente, ao Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes), do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG, e as UEs foram aleatoriamente distribuídas e maturadas (1,0 °C), em câmara climática (modelo EL202, EletroLab, Brasil), por 1 e 14 dias. As amostras do tratamento CONG foram primeiramente descongeladas lentamente por 24 horas sob refrigeração (4 °C) e, então, maturadas pelo período determinado.

3.3 Metodologias Analíticas

As peças de 5,0 cm, após a realização da análise de perda por exsudação (Purga) foram divididas, com o auxílio de um molde, em dois bifes de 2,5 cm de espessura, sendo um bife destinado à análise de perda de peso por cozimento (PPC) e força de cisalhamento (FC) e outro destinado às análises de pH, proteínas extraíveis, método de pressão em papel filtro (MPPF), teor de

colágeno solúvel e insolúvel, comprimento do sarcômero e grau de fragmentação miofibrilar. Após os tempos de maturação (1 e 14 dias) foram realizadas as análises de pH, proteínas extraíveis, Purga, MPPF, PPC e FC. E, para as demais análises as amostras foram congeladas e posteriormente analisadas.

3.3.1 pH

O pH foi medido, utilizando um pHmetro portátil (modelo HI 99163; Hanna Instruments, Woonsocket, RI, EUA) com eletrodo inserido em três pontos do bife.

3.3.2 Proteínas Extraíveis

A determinação das proteínas extraíveis, solúveis em água (sarcoplasmáticas) e totais, (PSS) foi realizada, segundo Joo et al. (1999). As proteínas sarcoplasmáticas foram extraídas a partir de 1 g de carne usando-se 10 mL de solução tampão fosfato de potássio 25 mM (pH 7,2) gelada. Já as totais foram extraídas a partir de 1 g de carne usando-se 20 mL de solução gelada de iodeto de potássio 1,1 M, em solução tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,2).

As amostras foram moídas e homogeneizadas (Turratec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil), nas respectivas soluções-tampão citadas acima, em baixa rotação, e mantidas a 4°C sob agitação por cerca de 12 horas. Depois de centrifugadas a 1500g por 20 min, a concentração de proteínas no sobrenadante foi determinada pelo método de Biureto, sendo que o teor de proteína foi obtido por meio de curva analítica de albumina de soro bovino (BSA), e expressa em mg/g de carne.

A concentração de proteínas miofibrilares foi estimada pela diferença entre a concentração de proteínas totais e sarcoplasmáticas.

3.3.3 Capacidade de retenção de água

A capacidade de retenção de água das amostras foi mensurada por três métodos deferentes, sendo esses citados abaixo.

3.3.3.1 Perda por exsudação (purga)

As amostras (UE) foram removidas da embalagem, secas em papel toalha e novamente pesadas para a determinação da purga, obtida pela diferença de massa das amostras antes e depois da embalagem, sendo expressa em porcentagem.

3.3.3.2 Método de pressão em papel filtro (MPPF)

A análise foi conduzida segundo Honikel e Hamm (1994), com modificações sugeridas por Aroeira (2014). Amostras de, aproximadamente, 300 mg de carne foram colocadas sobre uma folha de papel filtro previamente seco, e o conjunto foi prensado com um peso de 5 kg por 5 minutos. Após a prensagem, as áreas delimitadas pela carne prensada (Ac) e pelo líquido exsudado (Ae) no papel de filtro foram obtidas, utilizando o software ImageJ® 1.42q (National Institute of Health, USA), e a CRA expressa como a razão Ac/Ae.

3.3.3.3 Perda de peso por cozimento (PPC)

De um dos bifes de 2,5 cm de espessura, uma amostra retangular (8,0 x 4,0 x 2,5 cm) foi obtida, pesada, embalada a vácuo e cozida em banho-maria a 80 °C até temperatura interna de 71 °C, monitorada por um termômetro digital inserido no centro da amostra. Após o cozimento, as amostras foram mantidas refrigeradas (4 °C) por 24 h e novamente pesadas. A PPC foi determinada pela diferença entre a pesagem do bife antes e após o cozimento, sendo o resultado expresso em porcentagem.

3.3.4 Teor de colágeno solúvel e insolúvel

As frações solúveis e insolúveis do colágeno foram separadas através do método proposto por Hill (1966). A quantificação do colágeno foi conduzida pela determinação do aminoácido hidroxiprolina, seguindo o procedimento proposto por Bergman e Loxley (1963), descrito por Ramos e Gomide (2007).

O teor de hidroxiprolina foi obtido por meio de curva analítica, sendo utilizados os fatores 7,52 para a fração solúvel e 7,25 para a insolúvel, propostos por Cross, Carpenter e Smith (1973), para converter os resultados em colágeno (mg/g). O teor de colágeno total foi obtido pela soma das frações solúvel e insolúvel.

3.3.5 Comprimento do sarcômero

O comprimento do sarcômero foi determinado segundo o método descrito por Heinemann et al. (2002), com pequenas modificações. As amostras congeladas foram finamente desbastadas com ajuda de um estilete. Em seguida, cerca de 4 g de amostra foram colocadas em sacos de polietileno contendo 10

volumes (v/p) de solução de KCl 0,6 M e homogeneizados em aparelho *Stomacher* por 3 minutos. A suspensão obtida foi passada em uma peneira metálica de 18 *mesh*, para remoção do tecido conectivo. Uma alíquota de aproximadamente 0,1 mL do filtrado foi transferida para uma lâmina, sobreposta por lamínula, e imediatamente analisada em microscópio óptico (BA210, Motic, Hong Kong) com contraste de fase em aumento de 400x (objetiva de 40x e ocular de 10x) e as imagens foram capturas pelo software Motic Images Plus 2.0. O comprimento dos sarcômeros foi obtido verificando-se a distância (μm) entre as 'Bandas A' de diversos sarcômeros da miofibrila. Para cada amostra, foram medidos sarcômeros de pelo menos, seis campos diferentes.

3.3.6 Grau de fragmentação miofibrilar

A avaliação da fragmentação miofibrilar nas amostras foi conduzida pelo índice de fragmentação (IF), segundo protocolo proposto Davis et al. (1980) para amostras congeladas, com modificações. Cerca de 10 g de amostra em cubos (carne magra, sem gordura, vasos sanguíneos e tecido conectivo), ainda congelada, foi homogeneizada (Turratec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil) em 50 mL de solução de sacarose/KCl (4 °C) em velocidade máxima (15.000 rpm) por cerca de 40 segundos. O homogenato obtido foi filtrado em uma tela de náilon de 250 μm , previamente seca e pesada (P_i). O conjunto foi colocado sobre um papel filtro, previamente seco, e deixado à temperatura ambiente por 10 minutos. A seguir, o conjunto foi novamente pesado (P_f) e os resultados obtidos pela seguinte equação:

$$\text{IF} = 100 * (P_f - P_i).$$

Menores valores de IF indicam maior proteólise da estrutura miofibrilar.

3.3.7 Força de cisalhamento

A força de cisalhamento foi determinada segundo método *Warner-Bratzler square Shear Force* (WBsSF), proposto por Silva et al. (2015), utilizando as amostras cozidas para determinação do PPC (item 3.3.3.3). De cada bife cozido foram retiradas de cinco a seis amostras retangulares (1,0 x 1,0 x 2,5 cm), no sentido das fibras musculares, que foram cisalhadas transversalmente, a uma velocidade de 3,33 mm/s, por uma lâmina tipo *Warner-Bratzler* acoplada a um texturômetro TA.XTplus (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, UK). A força máxima (N) necessária para cisalhar por completo cada amostra foi mensurada e a média das leituras de cada bife utilizada na análise estatística.

3.4 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software SAS, versão 9.2 (*Statistical Analysis System - SAS Institute Inc.*, Cary, NC, USA), em nível de significância de 5%.

Os efeitos principais e das interações, duplas e tripla, dos fatores tratamento (refrigerado e congelado), dose de radiação e tempo de maturação e do bloco sobre os indicadores de qualidade de carne, foram determinados por meio da análise de variância (ANOVA), de acordo com o seguinte modelo:

$$y_{ijkm} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + \tau\beta_{ij} + \tau\gamma_{ik} + \beta\gamma_{jk} + \tau\beta\gamma_{ijk} + \omega_m + \varepsilon_{ijkm}$$

em que

y_{ijkm} = valor observado no tratamento (refrigerado e congelado) i , na dose de radiação j , no tempo de maturação k e no bloco (repetição) m ;

μ = média geral;

τ_i = efeito do tratamento (refrigerado e congelado) i ; $i = 1, 2$;

β_j = efeito da dose de radiação j ; $j = 1, 2, 3, 4$;

γ_k = efeito do tempo de maturação k ; $k = 1, 2$;

$\tau\beta_{ij}$ = efeito da interação do tratamento (refrigerado e congelado) i com a dose de radiação j ;

$\tau\gamma_{ik}$ = efeito da interação do tratamento (refrigerado e congelado) i com o tempo de maturação k ;

$\beta\gamma_{jk}$ = efeito da interação da dose de radiação j com o tempo de maturação k ;

$\tau\beta\gamma_{ijk}$ = efeito da interação entre o tratamento (refrigerado e congelado) i , a dose de radiação j e o tempo de maturação k ;

ω_m = efeito do bloco m ; $m = 1, \dots, 8$;

\mathcal{E}_{ijkm} = erro experimental, pressuposto normal e independentemente distribuído com média zero e variância σ^2 , associado a cada valor observado de y_{ijkm} . $\mathcal{E} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$.

De acordo com as significâncias das interações obtidas na ANOVA, os efeitos dos fatores tratamento (refrigerado e congelado) e tempo de maturação foram avaliados pelo teste F e o efeito do fator dose de radiação foi avaliado pelo teste de Tukey ou Duncan.

Posteriormente, foi realizada a análise de correlação de *Pearson* entre os indicadores de qualidade de carne (pH, proteínas extraíveis, CRA, teor de colágeno solúvel e insolúvel, comprimento do sarcômero, grau de fragmentação miofibrilar e força de cisalhamento), cujos coeficientes foram avaliados pelo teste t de *Student*.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 pH e proteínas extraíveis

Na Tabela 1 estão sumarizados os resultados obtidos para as análises de pH e proteínas extraíveis.

Tabela 1 Efeitos do tratamento, da dose de radiação gama e do tempo de maturação nos valores de pH e proteínas extraíveis de contrafilés (*M. L. thoracis et lumborum*) de bovinos

Fatores	Efeitos	pH	Proteínas extraíveis (mg/g)	
			Sarcoplasmática	Miofibrilar
Tratamento (T)	REFR	5,60±0,13	47,92±11,73	73,08±27,31
	CONG	5,49±0,09	43,78±7,26	74,09±28,42
Dose de radiação, kGy (R)	0	5,53±0,13	45,71±7,50	76,11±30,99
	3	5,55±0,12	46,97±13,81	69,17±31,20
	6	5,55±0,13	46,10±7,27	74,18±27,49
	9	5,56±0,10	44,63±10,11	74,89±20,96
Tempo de maturação, dias (M)	1	5,58±0,10	47,75±12,54	66,17±30,81 ^b
	14	5,52±0,13	43,96±5,88	81,00±22,20 ^a
Pr > F ¹	T	<0,001	0,011	0,837
	R	0,672	0,781	0,758
	M	0,002	0,020	0,003
	TxR	0,823	0,145	0,697
	TxM	0,022	0,023	0,981
	RxM	0,983	0,901	0,194
	TxRxM	0,343	0,217	0,409

REFR = amostras refrigeradas maturadas a 1 °C; CONG = amostras congeladas (-18 °C/24 h), descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C.

¹Valores significativos ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

^{a-b} Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste F, para os fatores tratamento e tempo de maturação, e pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), para as doses de radiação.

Para os valores de pH, foi observado um efeito significativo ($P < 0,05$) da interação tratamento x tempo de maturação. Os valores de pH das amostras congeladas foram menores ($P < 0,05$) do que nas amostras refrigeradas, independentemente do tempo de maturação (Figura 2). O congelamento da carne com subsequente produção de exsudado pode provocar a desnaturação de proteínas tamponantes, levando à liberação de íons H^+ e causando a queda do pH (LEYGONIE; BRITZ; HOFFMAN, 2012). Aroeira et al. (2016) e Kim et al. (2015) também observaram menores valores de pH para as amostras que foram congeladas e descongeladas em relação as refrigeradas, embora Carolino et al. (2009) não tenham encontrado diferença significativa ao avaliar carne de bovinos das raças Alentejana e Mertolenga.

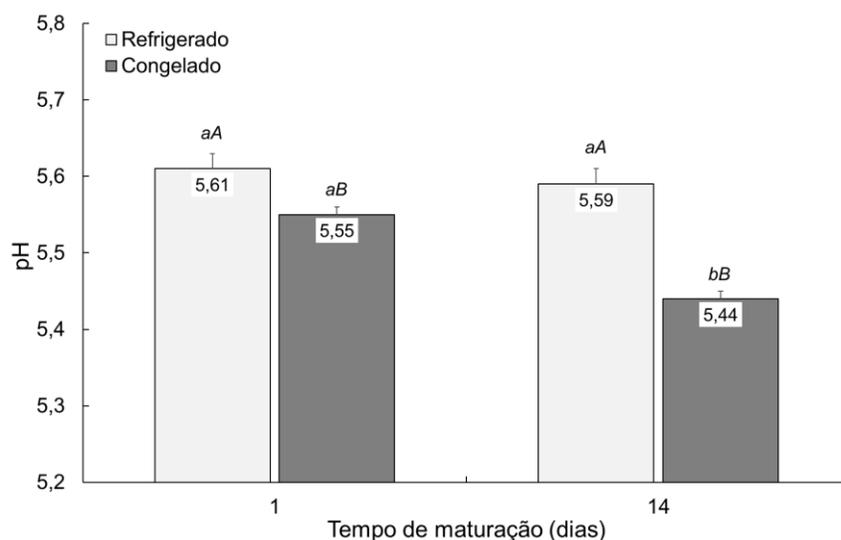


Figura 2 Valores médios de pH de contrafilés (*M. L. thoracis et lumborum*) bovinos durante a maturação em dois tratamentos: Refrigerado = amostras refrigeradas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-18 °C/24 h), descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (*ab*) para o tempo de maturação e maiúsculas (*AB*) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) da dose de radiação sobre o pH das amostras, o que corrobora os resultados relatados por Kanatt et al. (2015), Xavier et al. (2014) e Fu et al. (1995). O processo de irradiação pode causar pequenas mudanças no pH da carne (BREWER, 2004; YOOK et al. 2001), como observado por Kuttinarayanan e Ramanathan (2010), em que amostras de *Longissimus* irradiadas apresentaram um pH mais baixo do que as amostras não irradiadas. Modi et al. (2008), trabalhando com carne de bode irradiada (4kGy), também relataram menores valores de pH (0,2 a 0,3 unidades) na carne das amostras irradiadas quando comparadas com a amostra controle (0 kGy). Os mesmos autores atribuíram a queda nos valores de pH ao aumento de ácidos graxos livres nas amostras que foram irradiadas comparadas com a amostra controle.

Quanto à concentração de proteínas extraíveis, foi observado um efeito significativo ($P < 0,05$) do tempo de maturação para as proteínas miofibrilares e da interação tratamento x tempo de maturação para as proteínas sarcoplasmáticas (Tabela 1). A solubilidade proteica é uma propriedade funcional usada para classificar proteínas musculares, sendo frequentemente usada como indicador de outras propriedades funcionais, uma vez que influencia a capacidade das proteínas da carne de reter água (CRA), de formar e estabilizar emulsões, de ligar e de gelificar (EADY et al, 2014). A quantidade de proteína solúvel extraída da carne pode dar uma indicação do nível relativo de desnaturação que pode ocorrer durante um processo ou tratamento (KANATT; CHAWLA; SHARMA, 2015).

As proteínas sarcoplasmáticas apresentam cerca de 30% do total das proteínas da carne, incluindo, principalmente, as enzimas da via glicolítica, a mioglobina, a hemoglobina e creatina. A desnaturação desse grupo de proteínas tem grande importância na qualidade da carne, afetando, principalmente, a sua coloração, mas também influenciando a CRA (GOMIDE; RAMOS; FONTES,

2013). A solubilidade das proteínas sarcoplasmáticas foi dependente do tratamento e do tempo de maturação (Figura 3). No primeiro dia de maturação, as proteínas sarcoplasmáticas eram mais solúveis ($P < 0,05$) nas amostras refrigeradas do que nas amostras congeladas.

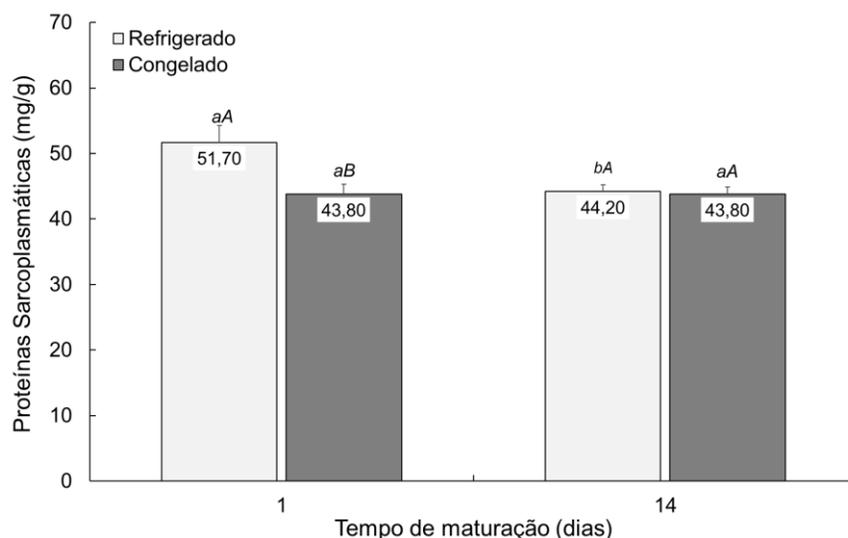


Figura 3 Concentração média do teor de proteínas sarcoplasmáticas extraíveis em contrafilés (*M. L. thoracis et lumborum*) bovinos durante a maturação em dois tratamentos: Refrigerado = amostras refrigeradas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-18 °C/24 h), descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (*ab*) para o tempo de maturação e maiúsculas (*AB*) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Leygonie, Britz e Hoffman (2012) relataram que o congelamento pode causar a desnaturação das proteínas devido ao aumento da força iônica intracelular, oriundo da migração da água para os espaços extracelulares e consequente concentração de soluto no meio intracelular. Isso está de acordo com a maior solubilidade (maior extração) observada nas amostras refrigeradas no presente estudo, o que indica um maior grau de desnaturação nas amostras

congeladas. Também deve-se considerar que, devido a uma maior quantidade de exsudado (purga) liberado nas amostras durante o descongelamento (AROEIRA et al., 2016), uma maior quantidade de proteínas sarcoplasmáticas são lixiviadas da carne descongelada, acarretando em menor extração quando comparada às amostras refrigeradas. Entretanto, Añón e Calvelo (1980) sugerem que a desnaturação proteica não contribui para a perda de qualidade, uma vez que estes não encontraram diferenças significativas na quantidade e composição das proteínas coletadas do exsudado de amostras cárneas frescas das amostras congeladas e imediatamente descongeladas.

As proteínas sarcoplasmáticas são conhecidas por serem mais suscetíveis à desnaturação precoce, devido à rápida glicólise *post mortem*, embora os efeitos dos períodos de maturação *post mortem* sobre a solubilidade das proteínas sarcoplasmáticas não sejam claros. Entretanto, alterações relacionadas à maturação na extração de proteínas são, provavelmente, devido às mudanças no tamanho molecular da proteína, conformação e ligações intra e intermoleculares que ocorrem com a maturação *post mortem* (EADY et al, 2014). Bowker et al. (2008b) encontraram resultados semelhantes ao deste estudo, onde ocorreu um decréscimo na solubilidade das proteínas sarcoplasmáticas da carne bovina com a maturação (0, 5 e 8 dias).

As proteínas miofibrilares também conhecidas como proteínas contráteis ou citoesqueléticas, que constituem a unidade da contração muscular (sarcômero), representadas principalmente pela actina e miosina, representam cerca de 55% das proteínas totais cárneas (KANATT; CHAWLA; SHARMA, 2015; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Além disso, esse grupo de proteínas possui um papel importante na CRA e na capacidade emulsionante da carne e de produtos cárneos.

A solubilidade das proteínas miofibrilares foi afetada apenas pelo tempo de maturação, sendo possível extrair mais proteínas miofibrilares nas amostras

maturadas por 14 dias ($81,00 \pm 22,20$ mg/g) do que nas maturadas por 1 dia ($66,17 \pm 30,81$ mg/g). Assim como as proteínas sarcoplasmáticas, ainda não se sabe ao certo, como a maturação *post mortem* pode afetar as proteínas miofibrilares. Entretanto, Eady et al. (2014) sugerem que a extração das proteínas miofibrilares é afetada pela maturação da mesma forma que as sarcoplasmáticas. Além disso, os efeitos da maturação *post mortem* na solubilidade das proteínas do músculo é dependente da espécie analisada, dos tratamentos de maturação e das condições de extração específicas. Bowker et al. (2008a) observaram resultados semelhantes ao deste estudo, ou seja, a maturação (0, 5 e 8 dias) *post mortem* aumentou a solubilidade das proteínas miofibrilares de lombos bovinos.

Ao contrário do observado para as proteínas sarcoplasmáticas, as proteínas miofibrilares não foram afetadas pelo congelamento. Farouk e Wieliczko (2003) relatam que as proteínas sarcoplasmáticas são mais suscetíveis a sofrer alterações com o congelamento por serem solúveis em água, sendo que são mais afetadas pela dinâmica de formação dos cristais. Petrovic, Grujic e Petrovic (1993) observaram que a solubilidade das proteínas miofibrilares extraídas de amostras de carnes bovinas congeladas foi maior do que das amostras não congeladas. Wagner e Añon (1985) relataram que as proteínas miofibrilares são desnaturadas pelo congelamento, sendo que esse efeito é mais pronunciado no congelamento lento. Segundo estes autores, essa desnaturação ocorre devido ao desdobramento parcial da molécula de proteína causando a exposição dos grupos hidrofóbicos, que acarretaria na união de proteínas durante o armazenamento congelado. Esse desdobramento é consequência do aumento da força iônica na fibra ou pela perda de água das proteínas miofibrilares devido ao congelamento.

O processo de irradiação da carne, refrigerada ou congelada, não afetou ($P > 0,05$) a solubilidade das proteínas da carne. Isto não condiz com as

observações relatadas por outros autores. Lee et al. (2000) relataram que a quantidade de proteína extraível da carne bovina (*M. semitendinosus*) aumentou ligeiramente com o aumento da dose de radiação, o que também foi observado por Kanatt, Chawla e Sharma (2015) para as proteínas totais e miofibrilares da carne de búfalos. Estes últimos autores também observaram um aumento significativo na solubilidade das proteínas sarcoplasmáticas de carne de frango irradiada em relação ao controle (0 kGy). De acordo com Zabielsky et al. (1984), a solubilidade da miosina diminui com o aumento da dose de radiação, a partir de 10 kGy.

A irradiação pode afetar a solubilidade das proteínas pela formação de radicais livres, gerados devido à radiólise da molécula de água, e que catalisam reações como: desaminação (resulta em ácido propiônico e pirúvico); descarboxilação (resultando na produção de etilamina e acetaldeído); redução de ligações dissulfeto; oxidação de grupos sulfidrilas; hidrólise de ligações peptídicas; e alterações na valência dos íons metálicos que compõem as enzimas. (GIROUX; LACROIX, 1998). No entanto, as mudanças nas proteínas não dependem somente da sua estrutura e do seu estado, mas também das condições do processo de irradiação como a dose e a taxa aplicada, a temperatura e da presença de oxigênio (KANATT; CHAWLA; SHARMA, 2015; GIROUX; LACROIX, 1998).

4.2 Perdas de exsudado

Na Tabela 2 estão sumarizados os resultados obtidos para as análises de purga, método de pressão em papel filtro (MPPF) e perda de peso por cozimento (PPC).

Tabela 2 Efeitos do tratamento, da dose de radiação gama e do tempo de maturação nos valores de purga, método de pressão em papel filtro (MPPF) e perda de peso por cozimento (PPC) de contrafilés (*M. L. thoracis et lumborum*) de bovinos

Fatores	Efeitos	Purga (%)	MPPF	PPC (%)
Tratamento (T)	REFR	3,09±1,94	0,26±0,09	27,16±2,79 ^a
	CONG	8,40±2,96	0,26±0,07	25,79±2,44 ^b
Dose de radiação, kGy (R)	0	4,61±2,85	0,30±0,08 ^a	25,37±2,01 ^b
	3	5,59±2,81	0,24±0,08 ^b	26,97±2,44 ^a
	6	5,85±3,32	0,26±0,07 ^b	26,67±3,75 ^a
	9	6,93±4,96	0,26±0,08 ^b	26,89±2,02 ^a
Tempo de Maturação, dias (M)	1	4,70±3,13 ^b	0,26±0,09	26,09±2,17
	14	6,80±3,85 ^a	0,27±0,07	26,86±3,11
Pr > F ¹	T	<0,001	0,827	0,002
	R	<0,001	<0,001	0,039
	M	<0,001	0,340	0,082
	TxR	0,042	0,905	0,062
	TxM	0,462	0,525	0,122
	RxM	0,199	0,572	0,484
	TxRxM	0,645	0,703	0,874

REFR = amostras refrigeradas maturadas a 1 °C; CONG = amostras congeladas (-18 °C/24 h), descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C.

¹Valores significativos ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

^{a-b} Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste F, para os fatores tratamento e tempo de maturação, e pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), para as doses de radiação.

Para os valores de purga, foi verificado um efeito significativo ($P < 0,05$) da interação tratamento x dose de irradiação e do tempo de maturação isolado. As amostras congeladas, independente da dose de radiação aplicada, tiveram maiores ($P < 0,05$) valores de purga do que as refrigeradas (Figura 4). Maiores perdas de exsudado devido ao congelamento e posterior descongelamento da carne estão de acordo com os resultados de outros trabalhos (AROEIRA et al.,

2016; AÑÓN; HERGENREDER et al., 2013; LAGERSTEDT et al., 2008; CALVELO, 1980), que relataram maior purga em amostras descongeladas. Isso ocorre, provavelmente, devido à formação de grandes cristais de gelo durante o congelamento lento, ocasionando o encolhimento e, ou, distorção e rompimento das fibras musculares, resultando em uma grande formação de exsudado que é perdido na forma de purga (KIM et al., 2015; SAVAGE; WARRISS; JOLLEY, 1990).

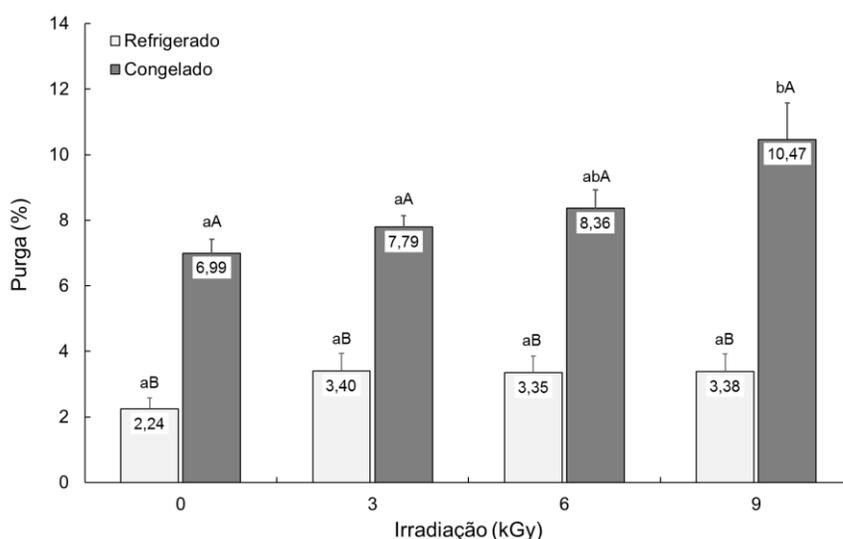


Figura 4 Valores médios da perda por exsudação (purga) de contrafilés bovinos irradiados, refrigerados e congelados (-18 °C), e maturados (1 °C) por 1 e 14 dias. As carnes irradiadas congeladas foram descongeladas (4 °C/24 h) e então maturadas. Letras iguais, minúsculas (*ab*) para as doses de radiação e maiúsculas (*AB*) para o tratamento (refrigerado e congelado), não diferem ($P > 0,05$) entre si. Barras representam o erro padrão da média.

Segundo Hughes et al. (2014), a purga está relacionada com a quantidade de água que é liberada a partir das miofibrilas e a facilidade com que ela é drenada para os espaços extracelulares entre fibras e feixes de fibras musculares

(canais de gotejamento) e, posteriormente, para fora do músculo. Assim, maiores valores de purga também podem ser devido à modificação ou desnaturação de proteínas oriundas de uma mudança na concentração no interior da fibra muscular. Maiores purgas, causada pela perda estrutural da célula, implicam em um aumento na concentração de solutos no meio intracelular, causado pela migração da água para os espaços extracelulares, ocasionando uma desnaturação proteica e contribuindo para maiores perdas de exsudado (AROEIRA et al., 2016; LEYGONIE; BRITZ; HOFFMAN, 2012).

Além da perda estrutural e aumento da força iônica intracelular, os menores valores de pH das amostras descongeladas também podem ter contribuído para os maiores valores de purga, conforme também observado por Aroeira et al. (2016). Com o pH próximo ao seu ponto isoelétrico (PI), as proteínas da carne, especialmente da miosina (PI ~5,3), encolhem, reduzindo os espaços interfilamentais e deslocando a água para o sarcoplasma e, subsequentemente, para o meio extracelular (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005). Isto condiz com a observação de uma correlação negativa ($r = -0,37$; $P < 0,05$), embora baixa, entre a purga e os valores de pH encontrada neste trabalho.

As proteínas cárneas possuem um papel importante na capacidade de retenção de água (CRA) da carne, em especial as proteínas miofibrilares que respondem por cerca de 75% da CRA da carne, sendo que a solubilidade das proteínas é o principal fator que determina as propriedades de CRA e capacidade emulsionante (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Entretanto, no presente estudo foi observada uma correlação baixa e negativa ($r = -0,19$; $P < 0,05$) entre a purga e as proteínas sarcoplasmáticas, mostrando que a desnaturação dessas proteínas impactou na perda de água do músculo, podendo ser uma das explicações para os maiores valores de purga das amostras congeladas.

Quanto ao efeito do processo de irradiação sobre a purga, apesar das amostras refrigeradas não terem sido afetadas ($P > 0,05$), maiores doses de radiação implicaram em maiores perdas ($P < 0,05$) nas amostras congeladas, possivelmente devido a uma maior desnaturação das proteínas da carne ocasionada pela interação destas, com radicais livres gerados pela radiólise da molécula de água (GIROUX; LACROIX, 1998; ZABIELSKY et al., 1984). Esta desnaturação pode ter sido insuficiente para ocasionar um aumento na purga das amostras refrigeradas, mas parece ter contribuído com os efeitos negativos do congelamento nas perdas de exsudado, mesmo porque o processo de irradiação não afetou ($P > 0,05$) a solubilidade das proteínas.

Maiores ($P < 0,05$) valores de purga também foram observados nas amostras com maior tempo de maturação (14 dias). Resultados semelhantes foram encontrados por Aroeira et al. (2016), Colle et al. (2015; 2016) e Jayasooriya et al. (2007). No músculo, a água é retida dentro e entre as miofibrilas, entre as fibras e entre os grupos de fibras (feixes) (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005). Durante o *post mortem*, ocorre uma separação entre fibras individuais e entre feixes de fibras musculares, aumentando o espaço extracelular por onde a água pode escapar; estes espaços macrocapilares foram denominados ‘canais de gotejamento’, por conduzir o exsudado para a superfície do corte (HUGHES et al., 2014). Assim, durante a maturação, a pressão negativa causada pela embalagem a vácuo induz a drenagem progressiva da água presente nos espaços extracelulares através dos canais de gotejamento formados, resultando no aumento da purga (AROEIRA et al., 2016).

A maior parte da água do músculo é mantida dentro das células musculares. A perda estrutural da carne, a desnaturação proteica e a proximidade do PI contribuem para a perda da habilidade da carne em reter água. A capacidade de retenção de água (CRA) é definida como a habilidade da carne

fresca em reter água durante o corte, aquecimento, moagem e pressão e, durante o transporte, armazenamento e cozimento (PEARCE et al., 2011).

No presente experimento, a CRA, medida pelo método de pressão em papel filtro (MPPF), não foi afetada ($P > 0,05$) pelo tratamento ou pelo tempo de maturação, mas o processo de irradiação, independentemente da dose, reduziu os valores de MPPF de $0,30 \pm 0,081$, nas amostras controle (0 kGy), para $0,25 \pm 0,076$ nas irradiadas. Kanatt, Chawla e Sharma (2015) também observaram que a irradiação diminuiu a CRA da carne. Entretanto, estes autores observaram que a perda da CRA era dose-dependente, sendo decorrente, provavelmente, da ruptura das membranas das fibras musculares e, ou, pela desnaturação das proteínas da carne induzida pelo processo de irradiação. Lawrie et al. (1961), avaliando músculo *Longissimus dorsi* de bovinos e suínos, observaram que a CRA das carnes reduziu 20% após a aplicação de 50 kGy (5 Mrads) com radiação ionizante beta, mesmo tendo aumentado o pH das amostras. Zabielsky et al. (1984) sugerem que a aplicação de doses de irradiação acima de 10 kGy faz com que a capacidade de retenção de água da carne diminua. No entanto, Kuttinarayanan e Ramanathan (2010) não encontraram efeito do processo de irradiação (2,5 kGy) sobre a CRA das amostras de *Longissimus dorsi*.

No presente trabalho, não foi observado um efeito dose dependente no MPPF das amostras, conforme verificado por Kanatt, Chawla e Sharma (2015), que utilizaram o método de centrifugação diferentemente do presente estudo, que determinou a CRA pelo método de pressão em papel filtro (MPPF). Além disso, os tipos de carnes avaliadas foram diferentes, o que pode também ter interferido nos valores de MPPF. Outro ponto que pode ser levado em consideração é que no presente trabalho não foi observado um efeito do processo de irradiação na solubilidade das proteínas, que são responsáveis por boa parte da CRA da carne.

No presente experimento, o congelamento e descongelamento da carne não afetaram ($P > 0,05$) os valores de MPPF das amostras. Isso está de acordo com a observação de Aroeira et al. (2016), que relataram que a ausência do efeito do congelamento no MPPF pode ser devido ao curto tempo de armazenamento congelado. Entretanto, Vieira et al. (2009) relataram uma menor CRA nas amostras que foram congeladas comparado às refrigeradas.

Da mesma forma que para o tratamento o MPPF não foi afetado ($P > 0,05$) pelo tempo de maturação. Resultados diferentes foram encontrados por Aroeira et al. (2016), em que amostras de contrafilé bovino apresentaram uma CRA maior já a partir do 14º dia de armazenamento. Esses autores justificaram o aumento da CRA durante a maturação, como oriundo da degradação das proteínas citoesqueléticas que promovem as ligações costaméricas entre as miofibrilas e as miofibrilas e o sarcolema. A degradação destas proteínas resulta no aumento do diâmetro da fibra muscular, aumentando assim, sua capacidade de reter a água que é expelida pelas miofibrilas durante o encurtamento *post mortem* (PEARCE et al., 2011; HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005; MELODY et al., 2004). Kim et al. (2017) relatam que mudanças bioquímicas *post mortem*, incluindo proteólise e oxidação de proteínas, podem afetar a degradação de proteínas miofibrilares, que estão associadas com a CRA e maciez da carne.

As diferenças existentes entre os resultados dos diferentes métodos utilizados para determinar a capacidade de retenção de água da carne são devido às diferentes origens dos líquidos perdidos em cada processo. Durante o cozimento, o exsudado perdido vem da água retida na carne e da gordura que é fundida no aquecimento. Na purga, a única força aplicada foi a pressão negativa causada pela embalagem a vácuo, sem a aplicação de uma força externa, sendo apenas a água dos espaços extracelulares exsudada. Já no MPPF, uma força externa mecânica (pressão) foi usada para forçar a saída da água, tanto

intracelular quanto daquela existente nos espaços extracelulares (AROEIRA et al., 2016; VIEIRA et al., 2009).

A perda de peso por cozimento (PPC) também é uma forma de avaliar a capacidade da carne em reter água. Tanto o tratamento (refrigerado e congelado) quanto a dose de radiação afetaram de forma significativa ($P < 0,05$) a PPC das amostras. A PPC foi menor nas amostras congeladas ($25,79 \pm 2,44\%$) do que nas refrigeradas ($27,16 \pm 2,79\%$), o que pode ser devido à maior purga das amostras congeladas, que perderam menos água durante o cozimento. No entanto, nenhuma correlação significativa ($P > 0,05$) pode ser encontrada entre a PPC e a purga. Durante o processo de maturação, a PPC das amostras não foi afetada. Isto está de acordo com a observação de outros autores (VIEIRA et al., 2009; STUBY; LAMKEY; DOLEZAL, 1993).

Aroeira et al. (2016) também observaram maiores valores de PPC nas amostras não congeladas (refrigeradas) em relação àquelas que sofreram o congelamento. Outros estudos (GRAYSON et al., 2014; HERGENREDER et al., 2013; SHANKS et al., 2002; CROUSE; KOOHMARAIE, 1990), no entanto, têm mostrado que o congelamento e descongelamento da carne aumenta a PPC comparado com as amostras controles. Este aumento é atribuído à degradação das fibras musculares pela formação dos cristais de gelo.

Quanto à irradiação, as amostras que sofreram este processo, independente da dose aplicada, possuíram uma maior PPC do que as amostras controle (0 kGy). Kanatt, Chawla e Sharma (2015), avaliando o efeito de diferentes doses de irradiação (0, 2,5, 5 e 10 kGy) no rendimento de cozimento das carnes de búfalo, frango e cordeiro, também observaram que o processo de irradiação aumentou as perdas de cozimento das amostras, sendo que para as carnes de búfalo e cordeiro, o aumento foi de 20% e 24%, respectivamente.

4.3 Colágeno

O colágeno é uma abundante proteína do tecido conjuntivo, representando cerca de 95% das proteínas desse tecido e, os outros 5%, são a elastina, glicoproteínas menores e proteoglicanos, desempenhando um papel importante na maciez da carne. O conteúdo e a solubilidade da molécula de colágeno tem um impacto sobre a maciez e isso está relacionado com a dureza intrínseca (*background toughness*). A solubilidade do colágeno é afetada por uma série de fatores, tais como a idade animal, sexo e tipo de músculo, e isso leva a uma variação na textura (STARKEY et al., 2016; KANATT et al., 2015; VEISETH et al., 2004; STANTON; LIGHT, 1987). Nesse contexto, apenas a dose de radiação afetou ($P < 0,05$) o teor de colágeno total e sua fração insolúvel, incluindo o percentual de colágeno solúvel (Tabela 3).

Os teores de colágeno insolúvel e total das amostras irradiadas não diferiram ($P > 0,05$) das amostras controle (0 kGy), mas as amostras com a maior dose (9 kGy) de irradiação apresentaram menores ($P < 0,05$) valores para o conteúdo de colágeno total e insolúvel do que as amostras irradiadas 3 e 6 kGy. Kanatt, Chawla e Sharma (2015) não observaram um efeito do processo de irradiação sobre o teor de colágeno nos três tipos de carnes (aves, cordeiro e búfalo) estudadas.

Tabela 3 Efeitos do tratamento, da dose de radiação gama e do tempo de maturação no teor de colágeno total, e suas frações, em contrafilés (*M. L. thoracis et lumborum*) bovinos

Fatores	Efeitos	Solúvel (mg/g)	Insolúvel (mg/g)	Total (mg/g)	Solúvel (%)
Tratamento (T)	REFR	0,45±0,11	2,02±0,74	2,47±0,77	19,24±5,66
	CONG	0,45±0,11	2,16±0,64	2,62±0,68	18,07±4,62
Dose de radiação, kGy (R)	0	0,42±0,10	2,01±0,60 ^{ab}	2,43±0,64 ^{ab}	17,74±4,03 ^b
	3	0,44±0,11	2,23±0,71 ^a	2,67±0,72 ^a	17,30±5,39 ^b
	6	0,46±0,11	2,35±0,77 ^a	2,82±0,80 ^a	17,41±5,65 ^b
	9	0,49±0,10	1,77±0,57 ^b	2,26±0,63 ^b	22,15±3,97 ^a
Tempo de maturação, dias (M)	1	0,45±0,11	2,13±0,74	2,58±0,78	18,43±5,09
	14	0,45±0,11	2,06±0,65	2,51±0,67	18,87±5,30
Pr > F ¹	T	0,807	0,153	0,174	0,993
	R	0,059	<0,001	<0,002	<0,001
	M	0,989	0,490	0,523	0,536
	TxR	0,338	0,206	0,222	0,267
	TxM	0,268	0,563	0,468	0,238
	RxM	0,141	0,172	0,122	0,449
	TxRxM	0,772	0,167	0,249	0,089

REFR = amostras refrigeradas maturadas a 1 °C; CONG = amostras congeladas (-18 °C/24 h), descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C.

¹Valores significativos ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

^{a-b} Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste F, para os fatores tratamento e tempo de maturação, e pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), para as doses de radiação.

Entretanto, ao se avaliar o percentual de colágeno solúvel, verificou-se que o mesmo foi maior ($P < 0,05$) nas amostras irradiadas por 9 kGy do que nas demais. Bailey e Rhodes (1964) e Bailey, Rhodes e Cater (1964) relataram que o processo de irradiação aumenta a solubilidade da molécula de colágeno devido à ruptura das ligações peptídicas que formam a molécula, levando à formação de fragmentos de baixo peso molecular que, conseqüentemente, são mais solúveis.

Quando a irradiação é conduzida em meio úmido ocorre, primeiramente, a ruptura das ligações peptídicas e, em seguida, a formação de ligações cruzadas. A primeira reação aumenta a solubilidade à medida que o peso molecular é reduzido, e a última reação causa a redução da solubilidade da molécula de colágeno e aumenta sua resistência térmica à desnaturação. Ainda segundo estes autores, a formação de novas ligações cruzadas é um exemplo do efeito indireto da radiação, uma vez que elas são formadas a partir dos radicais livres liberados pela radiólise da molécula de água. Assim, essa reação pode ser prevenida através da imobilização da água por meio do congelamento, embora isso não tenha sido observado no presente experimento, uma vez que não houve efeito do tratamento em nenhuma das frações do colágeno. Por outro lado, Bailey e Rhodes (1964) relatam que a reação que conduz à ruptura da cadeia, aumentando a solubilidade da molécula, não é afetada pelo congelamento, pois pode ocorrer pela absorção direta da energia da irradiação pelas moléculas de proteína, o que condiz com a ausência de efeito do tratamento observada e o aumento na solubilidade quando grande quantidade de energia (9 kGy) é usada.

Kanatt, Chawla e Sharma (2015) também observaram um aumento na porcentagem de colágeno solúvel quando a carne de búfalo foi irradiada com 10 kGy (de 3,50% nas amostras não irradiadas para 6,80% nas irradiadas). Bailey e Rhodes (1964) observaram que a solubilidade do colágeno de músculos bovinos foi três vezes maior, comparando com a amostra não irradiada, quando uma dose maior que 5 Mrads (50 kGy) foi aplicada.

Outros trabalhos corroboram a ausência de efeito ($P > 0,05$) do tratamento (refrigerado e congelado) e do tempo de maturação sobre as frações do colágeno. De Paula (2013) não observou efeito do congelamento sobre os teores de colágeno solúvel e insolúvel da carne de animais Nelore e F1 (Nelore x Simental) maturadas por até 21 dias, enquanto Koohmaraie et al. (1987) não

observaram efeito dos tempos de maturação (1 e 14 dias) no conteúdo de colágeno, total e solúvel, de músculo *Longissimus* de bovinos.

4.4 Estrutura miofibrilar e maciez

Na Tabela 4 estão sumarizados os resultados obtidos para as análises de comprimento de sarcômero, fragmentação miofibrilar e força de cisalhamento.

Para o comprimento do sarcômero foi verificado apenas efeito significativo ($P < 0,05$) da dose de radiação, não sendo afetado ($P > 0,05$) pelos demais fatores. De forma geral, maiores doses de radiação implicaram em maiores comprimentos do sarcômero. Isso pode ser devido à desnaturação proteica causada pelos raios gama, que pode induzir o rompimento das ligações entre os miofilamentos do músculo, causando um aumento de comprimento ou evitando que o sarcômero encolha. Lee et al. (2000) relataram que parte da cabeça da miosina é desnaturada pela radiação gama. Yook et al. (2001) observaram que amostras de carne bovina (*M. sternomandibularis*) irradiadas com 3 e 5 kGy apresentaram comprimentos do sarcômero maiores (1,72 e 1,80 μm , respectivamente) que a amostra não irradiada (1,33 μm), supostamente devido ao rompimento das ligações entre a miosina e a actina causado pela radiação. Horowitz et al. (1986) relataram que o aumento no comprimento do sarcômero (de 2,6 para 3,0 μm) observado em fibras musculares irradiadas era consequência do aumento na zona H do sarcômero, enquanto os filamentos finos permaneceram intactos e ligados à linha Z. Além disso, após a irradiação, a banda A e a linha M no centro do sarcômero não eram mais nitidamente definidas, apresentando-se desordenadas, o que indicava um desalinhamento dos filamentos grossos.

Tabela 4 Efeitos do tratamento, da dose de radiação gama e do tempo de maturação no comprimento de sarcômero, fragmentação miofibrilar (IF) e força de cisalhamento contrafilés (*M. L. thoracis et lumborum*) bovinos

Fatores	Efeitos	Sarcômero (μm)	IF	WBsSF (N)
Tratamento (T)	REFR	1,62 \pm 0,12	841 \pm 100 ^a	88,68 \pm 26,88
	CONG	1,60 \pm 0,14	790 \pm 69 ^b	80,64 \pm 23,93
Dose de radiação, kGy (R)	0	1,58 \pm 0,12 ^b	772 \pm 71 ^b	81,52 \pm 28,55
	3	1,59 \pm 0,14 ^b	837 \pm 102 ^a	87,60 \pm 24,62
	6	1,66 \pm 0,12 ^a	830 \pm 97 ^a	84,46 \pm 23,15
	9	1,62 \pm 0,13 ^{ab}	822 \pm 71 ^{ab}	84,95 \pm 26,88
Tempo de maturação, dias (M)	1	1,61 \pm 0,13	806 \pm 84	91,04 \pm 27,96
	14	1,61 \pm 0,12	825 \pm 94	78,18 \pm 21,48
Pr > F ¹	T	0,198	<0,001	0,020
	R	0,004	0,007	0,660
	M	0,886	0,181	<0,001
	TxR	0,121	0,409	0,021
	TxM	0,208	0,123	<0,001
	RxM	0,154	0,370	0,900
	TxRxM	0,652	0,451	0,988

REFR = amostras refrigeradas maturadas a 1 °C; CONG = amostras congeladas (-18 °C/24 h), descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C.

¹Valores significativos ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

^{a-b} Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste F, para os fatores tratamento e tempo de maturação, e pelo teste de Tukey ou Duncan ($P < 0,05$), para as doses de radiação.

Entretanto, Lakritz et al. (1987) não observaram diferença entre o comprimento do sarcômero de músculo *Longissimus dorsi* bovino irradiados por altas doses (50 kGy) dos não irradiados (controle). Além disso, Yoon (2003) observou que a irradiação gama causou o encurtamento do sarcômero dos peitos de frango irradiados, mesmo tendo ocorrido a degradação física das miofibrilas.

Quanto a ausência de efeitos do tratamento (refrigerado e congelado) e do tempo de maturação no comprimento do sarcômero, as informações na literatura são conflitantes. Aroeira et al. (2016) também não encontraram efeito significativo do tratamento (refrigerado e congelado) no comprimento do sarcômero. Entretanto, esses mesmos autores observaram menor comprimento do sarcômero com o tempo de maturação. Já Hou et al. (2014) e Jeremiah e Martin (1978), como no presente estudo, também não observaram efeito do tempo de maturação no comprimento do sarcômero do músculo.

Para o grau de fragmentação miofibrilar, medido pelo índice de fragmentação (IF), foi observado efeito significativo ($P < 0,05$) do tratamento (refrigerado e congelado) e da dose de radiação isolados (TABELA 4). As amostras congeladas e descongeladas apresentaram menores IF ($P < 0,05$) do que as amostras refrigeradas. Menores valores de IF indicam uma maior fragmentação da estrutura da carne (RAMOS; GOMIDE, 2007), o que, no caso de amostras congeladas, pode ser devido à perda da integridade estrutural ocasionada pela formação dos cristais de gelo intracelular, que rompem as estruturas físicas, quebrando grande parte das miofibrilas (AROEIRA et al., 2016; SHANKS; WULF; MADDOCK, 2002).

Durante a maturação, Aroeira et al. (2016) observaram um aumento na proteólise nas amostras congeladas, sendo que a maior taxa proteolítica aconteceu nos primeiros sete dias de maturação. Grayson et al. (2014) também relataram um aumento na proteólise durante a maturação devido ao congelamento, sugerindo que 25 a 35% da redução nos valores da força de cisalhamento do músculo *L. lumborum* congelados e maturados são devidos à proteólise, sendo o restante (65 a 75%) devido ao efeito do congelamento por si só. Entretanto, no presente experimento, não foi observado efeito ($P > 0,05$) da interação do tratamento x tempo de maturação, ou mesmo, do tempo de maturação isolado. De Paula (2013) não observou efeito do congelamento sobre

fragmentação miofibrilar do músculo *Longissimus thoracis* de bovinos, porém, encontrou efeito isolado do tempo de maturação.

A diferença entre a maior proteólise observada por Aroeira et al. (2016) em carnes de animais Nelore, com o congelamento e a menor proteólise observada no presente trabalho, pode ser devido ao tempo de armazenamento congelado a que as amostras foram submetidas. Enquanto estes autores armazenaram as carnes congeladas por 40 dias antes de proceder o descongelamento e a maturação, no presente estudo, as amostras foram mantidas congeladas apenas por 24 horas. Assim, é provável que o tempo de congelamento de apenas 24 horas, não tenha sido suficiente para a inativação das calpastatinas de forma significativa. Koohmaraie (1990) observou que o grau de inativação das calpastatinas com o congelamento é dependente do tempo de armazenamento congelado.

No presente estudo, era esperado um efeito significativo do tempo de maturação sobre a fragmentação miofibrilar, como foi observado por De Paula (2013). Aroeira et al. (2016) observaram um aumento significativo na fragmentação das carnes de animais Nelore com o tempo de maturação, sendo que no tempo zero, os valores de IF foram de 546 e com 14 dias reduziu para 368. Essa ausência da fragmentação, no presente estudo, pode ser devido ao método utilizado para realizar a análise, provavelmente ele não obteve sensibilidade suficiente para determinar o grau de fragmentação, pois, as amostras foram maturadas por tempo suficiente para fragmentarem, mesmo em animais Nelore onde a proteólise *post mortem* é menor, devido aos maiores níveis de calpastatina no músculo.

A dose de radiação também afetou de forma significativa ($P < 0,05$) o índice de fragmentação. As amostras irradiadas por 3 e 6 kGy (837 ± 102 e 830 ± 97 , respectivamente) apresentaram maiores valores de IF que a amostra controle (772 ± 71), indicando que a radiação gama afetou negativamente a

fragmentação da carne, possivelmente, por reduzir a ação das enzimas proteolíticas naturais, em especial as calpaínas, durante o 1º dia de maturação. O processo de irradiação cria condições altamente oxidantes devido à formação de radicais livres (NAM; AHN, 2003) e essas condições podem afetar as enzimas endógenas da carne. Rowe et al. (2004) relataram que as calpaínas possuem um resíduo de cisteína oxidável no seu sítio ativo, por isso, exigem condições redutoras para serem ativadas. Esses autores observaram que a irradiação da carne com doses de 6,4 kGy diminuiu a ação proteolítica da calpaína I e reduziu a taxa de inativação do seu inibidor, a calpastatina, em um período de 14 dias de maturação. Essas alterações condizem com a menor fragmentação observada nas amostras irradiadas a 3 e 6 kGy.

Entretanto, o IF das amostras irradiadas por 9 kGy não diferiu ($P > 0,05$) das amostras controles (0 kGy) ou irradiadas por 3 e 6 kGy, o que indica uma menor interferência do processo na fragmentação da carne. Alguns autores (YOON, 2003; YOON et al., 2001; LEE et al., 2000) sugeriram que o processo de irradiação pode induzir à ruptura física das miofibrilas diretamente pelos raios gama (pelo rompimento da actomiosina) ou pela desnaturação de proteínas estruturais como a desmina. Assim, o provável efeito inibitório sobre as proteases seria contrabalanceado pela fragmentação oriunda da irradiação em doses maiores. Segundo Horowitz et al. (1986), as proteínas titina e nebulina podem ser degradadas quando expostas a baixas doses de radiação. Estes autores avaliaram o comportamento destas proteínas, isoladas da fibra do músculo *psoas* da carne de coelho, por eletroforese e observaram que à medida que aumentava a dose de radiação, as bandas da titina e nebulina iam diminuindo a intensidade. Ambas as proteínas quase desapareceram completamente depois de expostas à dose de 1,5 Mrad (15 kGy), enquanto que pelo menos 85% da cadeia de miosina, actina e α -actinina permaneceram intactas.

Perdas estruturais com aplicação de altas doses de radiação gama condizem com a observação de Lakritz et al. (1987) de que amostras (*M. Longissimus dorsi*) irradiadas (5, 10 e 50 kGy) possuíam uma maior fragmentação miofibrilar, à medida que a dose era aumentada, do que as amostras controle (0 kGy). Entretanto, a fragmentação da estrutura da carne avaliada pelo IF, não foi favorecida pela irradiação. Além disso, Lee, Sebranek e Parrish (1996), avaliando o efeito da irradiação (2 kGy) e da embalagem em atmosfera modificada (MAP) na qualidade da carne bovina (*Longissimus lumborum* e *thoracis*) maturada à alta temperatura (15 e 30 °C) por 1, 2, 3, 7 e 14 dias, relataram que o processo de irradiação não afetou o grau de fragmentação miofibrilar.

Para a força de cisalhamento (WBsSF), foi verificada interações significativas ($P < 0,05$) do tratamento (refrigerado e congelado) com o tempo de maturação e com as doses de radiação gama (Tabela 4). Ao decompor as doses de radiação nos tratamentos, observou-se que os valores de WBsSF (média de $88,75 \pm 6,70$ N) das amostras irradiadas refrigeradas não foi afetado ($P > 0,05$) e, apesar de haver diferença significativa ($P < 0,05$) na decomposição das doses de radiação nas amostras congeladas, não foi detectado diferença entre as médias das doses pelo teste de Tukey. Assim, as médias foram avaliadas pelo teste de Duncan e pode-se observar um efeito significativo ($P < 0,05$) da dose de radiação nas amostras congeladas, sendo que não houve uma diferença significativa entre as doses de radiação, no entanto, as amostras congeladas e irradiadas com a maior dose (9 kGy), diferiram da amostra controle (0 kGy) (Figura 5). O comportamento observado foi de uma maior WBsSF nas amostras irradiadas com 9 kGy ($89,28 \pm 7,86$ N) do que nas amostras controle ($70,91 \pm 5,20$ N).

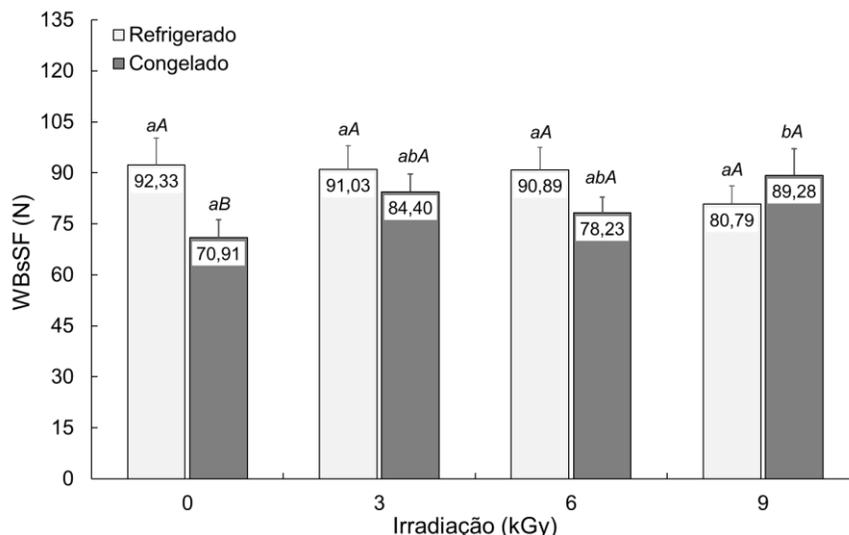


Figura 5 Valores médios da força de cisalhamento (WBsSF) de contrafilés bovinos irradiados, refrigerados e congelados (-18 °C), e maturados (1 °C) por 1 e 14 dias. As carnes irradiadas congeladas foram descongeladas (4 °C/24 h) e então maturadas. Letras diferentes, minúsculas (*ab*) para as doses de radiação e maiúsculas (*AB*) para o tratamento (refrigerado e congelado), não diferem ($P > 0,05$) entre si. Barras representam o erro padrão da média.

Menor maciez com a aplicação da irradiação é consistente com a menor fragmentação da estrutura miofibrilar, medida pelo IF, mas não condiz com os maiores comprimentos do sarcômero e maior percentual de colágeno solúvel observados nessas carnes. Entretanto, apesar do comprimento do sarcômero e o tecido conectivo contribuírem para explicar a variação observada na maciez da carne, a fragmentação miofibrilar pode prever mais de 50% da variação na textura da carne (AROEIRA et al., 2016; HOPKINS; LITTLEFIELD; THOMPSON, 2000). Além disso, as maiores perda de água por exsudação (purga), observadas nas amostras irradiadas congeladas, podem também ter contribuído para o aumento da dureza, pela maior compactação da estrutura miofibrilar (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Grozdanov et al. (1982) também não observaram diferenças significativas na força de cisalhamento do músculo *Semimembranosus* bovino entre as amostras (refrigeradas) irradiadas com 3 kGy e as amostras controle. Já Yoon (2003), avaliando o efeito da radiação gama (0,5 a 5 kGy) sobre a maciez de peitos de frango refrigerados, relatou que as amostras irradiadas (11,8 kgf) apresentaram uma força de cisalhamento maior que as amostras não irradiadas (6,81 kgf).

De forma contrária ao observado neste experimento, Kanatt et al. (2015) propuseram que o processo de irradiação favorece a maciez da carne, sendo este efeito dose-dependente. Em seu estudo, doses de 10 kGy na carne de búfalo irradiada, implicaram em uma redução de 74% na força de cisalhamento comparada com a amostra controle (0 kGy), sendo que uma redução também foi observada nas carnes de cordeiro e frango irradiadas. Estes autores atribuíram o favorecimento da maciez da carne pela irradiação ao aumento da solubilidade observada para a molécula de colágeno. Yook et al. (2001), avaliando o efeito da radiação gama (3 e 5 kGy) na maciez do músculo *Sternomandibularis* de bovinos observaram uma redução significativa na força de cisalhamento das amostras irradiadas com doses de 3 e 5 kGy. Segundo estes autores, o favorecimento da maciez pelo processo de irradiação pode ser devido à ruptura física das miofibrilas e, ou, desnaturação proteica causada pela radiação gama.

Para as amostras controle (0 kGy), a força de cisalhamento foi menor nas congeladas do que nas amostras refrigeradas (Figura 5), indicando um favorecimento na maciez da carne. Este favorecimento foi devido, provavelmente, a perda estrutural das amostras durante o congelamento e descongelamento, como evidenciado pelos valores de IF.

Diversos trabalhos (AROEIRA et al., 2016; VIEIRA et al., 2009; LAGERSTEDT et al., 2008; FAROUK et al., 2003; SHANKS et al., 2002) têm mostrado que o congelamento/descongelamento favorece a maciez da carne.

Entretanto, no presente experimento, este efeito foi observado apenas nas amostras que foram congeladas antes da maturadas (a 1 °C) por 14 dias (Figura 6).

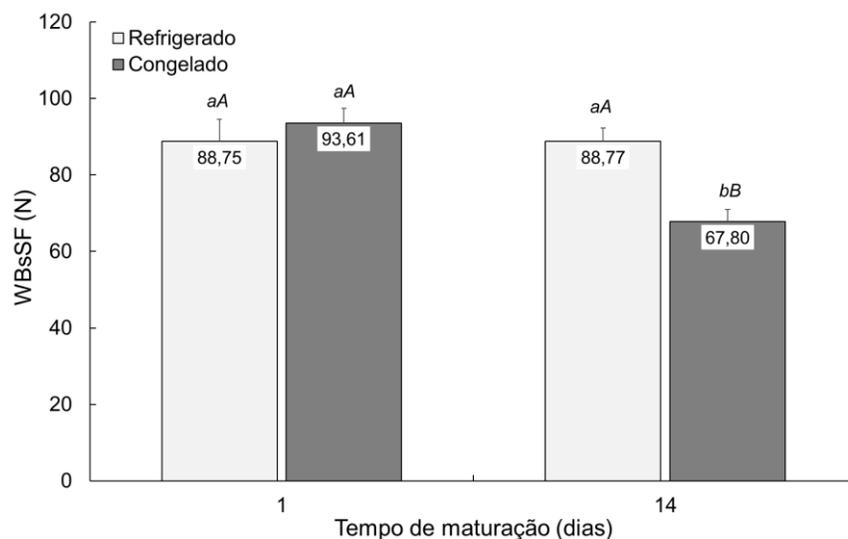


Figura 6 Valores médios da força de cisalhamento (WBsSF) de contrafilés (*M. L. thoracis et lumborum*) bovinos durante a maturação em dois tratamentos: Refrigerado = amostras refrigeradas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-18 °C/24 h), descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (*ab*) para o tempo de maturação e maiúsculas (*AB*) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Outros trabalhos (GRAYSON et al., 2014; CAROLINO et al., 2009; CROUSE; KOOHMARAIE, 1990; COHEN, 1984) também observaram que o congelamento prévio à maturação favoreceu a maciez da carne bovina. Grayson et al. (2014) relataram que a força de cisalhamento das amostras que foram congeladas, descongeladas e maturadas foi menor que das amostras refrigeradas devido ao aumento da proteólise durante o período de maturação. Estes autores observaram que a degradação da proteína desmina foi maior nas amostras que foram descongeladas e depois maturadas do que nas amostras refrigeradas.

Maiores taxas de proteólises em amostras congeladas/descongeladas são devidas, provavelmente, à inativação da calpastatina durante o congelamento favorecendo assim, a ação das calpaínas (AROEIRA et al., 2016). Entretanto, no presente trabalho, não foi verificado efeito ($P > 0,05$) do tempo de maturação na fragmentação da estrutura miofibrilar, o que indica que os efeitos observados são estritamente devidos ao congelamento.

Por outro lado, após 1 dia de maturação, não foi observado diferença nos valores de WBsSF entre as amostras congeladas e refrigeradas (média de $91,18 \pm 4,87$ N). Aroeira et al. (2016) não observaram diferença entre amostras congeladas e refrigeradas em nenhum tempo de maturação avaliado (0, 7, 14 e 21 dias) quando as amostras eram oriundas de animais zebuínos (Nelore), mas observou uma redução de 14,89 N na força de cisalhamento de animais Angus no primeiro dia de maturação, que permaneceu constante (48.26 ± 2.40 N) até o 21º dia. Hergenreder et al. (2013), estudando o efeito do congelamento/descongelamento prévio à maturação sobre a maciez, em diferentes cortes bovinos, não observaram efeito significativo do congelamento sobre a força de cisalhamento das amostras.

Aroeira et al. (2016) observaram uma força de cisalhamento de 59,95 N na carne de animais Nelore após 14 dias de maturação. No presente experimento, após 14 dias, os valores médios da força de cisalhamento das carnes refrigeradas eram relativamente maiores que os valores encontrados por Aroeira et al. (2016). Essa diferença pode ser oriunda do método de cozimento utilizado para avaliar a força de cisalhamento (grelha x banho-maria), pois Obuz et al. (2004) relataram que o cozimento da carne em banho-maria gerou forças de cisalhamento 1,10 vezes maiores do que o cozimento em grelha contínua (*belt-grill*). Além disso, outros fatores como idade dos animais, sistema de criação, alimentação e manejo pré e pós abate (RAMOS; GOMIDE, 2007) podem interferir na força de cisalhamento, especialmente aqueles fatores que

afetam componentes importantes como o teor de colágeno e a ação das enzimas endógenas. Whipple e Koohmaraie (1992) relataram que a temperatura e a taxa de congelamento, bem como a taxa de descongelamento, podem afetar a textura à medida que a carne é maturada depois de congelada, devido a efeitos benéficos e maléficos do próprio congelamento.

5 CONCLUSÃO

O processo de radiação gama afetou de forma negativa a força de cisalhamento da carne de animais da raça Nelore (*Bos indicus*) congeladas, sendo que as amostras irradiadas com uma dose de 9 kGy e congeladas, apresentaram maiores valores de força de cisalhamento, entretanto, as carnes bovinas refrigeradas não sofreram efeito da radiação gama. Porém, o congelamento reduziu a força de cisalhamento das amostras, especialmente daquelas maturadas por 14 dias. Assim, pode-se concluir que a radiação gama não contornou o problema de inconsistência da maciez da carne, em contrapartida, o congelamento prévio à maturação mostrou ser uma técnica eficiente para aprimorar a maciez da carne bovina, em especial, a de animais Nelore.

REFERÊNCIAS

ABDALLAH, M. B.; MARCHELLO, J. A.; AHMAD, H. A. Effect of Freezing and Microbial Growth on Myoglobin Derivatives of Beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 4093–4099, 1999.

AHN, D. U.; NAM, K. C. Effects of ascorbic acid and antioxidants on color, lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 71, p. 149–154, 2004.

AHN, D. U.; OLSON, D. G.; JO, C.; CHEN, X. WU, C.; LEE, J. I. Effect of Muscle Type, Packaging, and Irradiation on Lipid Oxidation, Volatile Production, and Color in Raw Pork Patties. **Meat Science**, v. 49, n. 1, p. 27–39, 1998.

AL-BACHIR, M.; ZEINOU, R. Effect of gamma irradiation on the microbial load, chemical and sensory properties of goat meat. **Acta Alimentaria**, v. 43, n. 2, p. 264–272, 2014.

ALVES, D. D.; MANCIO, A. B. Maciez da carne bovina - Uma revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 14, n. 1, p. 193–216, 2007.

ANDRADE, M. P. D. **Efeito da irradiação gama e nitrito na inibição do *Clostridium botulinum* e na qualidade de mortadelas**. 2013. 152 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG 2013.

AÑÓN, M. C.; CALVELO, A. Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. **Meat Science**, v. 4, p. 1–14, 1980.

AROEIRA, C. N. **Efeitos do congelamento prévio à maturação na maciez e cor da carne de tourinos Nelore e Anberdeen Angus**. 2014. 104 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2014.

AROEIRA, C. N.; FILHO, R. A. T.; FONTES, P. R.; et al. Freezing, thawing and aging effects on beef tenderness from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. **Meat Science**, v. 116, p. 118–125, 2016. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.006>>. Acesso em: 10 dez. 2016.

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadora de Carne. **Perfil da pecuária do Brasil**. Relatório Anual 2016. Disponível em: <<http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/sumario-pt-010217.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2017.

ACNB. Associação dos Criadores de Nelore do Brasil. **Raça** – A origem. Disponível em: <<http://www.nelore.org.br/Raca>>. Acesso em: 15 fev. 2017.

BAILEY, A. J. The Basis of Meat Texture. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 23, p. 995–1007, 1972.

BAILEY, A. J.; RHODES, D. N. Treatment of meats with ionising radiations . XI .* -Changes in the Texture of Meat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 15, p. 504–508, 1964.

BAILEY, A. J.; RHODES, D. N.; CATER, C. W. Irradiation-Induced Crosslinking of Collagen. **Radiation Research**, v. 22, p. 606–621, 1964.

BARÓN, C. L. C. **Influência do pH final na bioquímica e na qualidade do músculo *Longissimus dorsi* de animais *Bos taurus indicus* machos inteiros**. 2016. 81 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP, 2016.

BERGMAN, I.; LOXLEY, R. Two Improved and Simplified Methods for the Spectrophotometric Determination of Hydroxyproline. **Analytical Chemistry**, v. 35, n. 12, p. 1961–1965, 1963. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60205a053>>. Acesso em 10 fev. 2017.

BIANCHINI, W.; SILVEIRA, A. C.; JORGE, A. M.; ARRIGONI, M. B.; MARTINS, C. L.; RODRIGUES, E.; HADLICH, J. C.; ANDRIGHETTO, C. Efeito do grupo genético sobre as características de carcaça e maciez da carne fresca e maturada de bovinos superprecoces. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 2109–2117, 2007.

BOWKER, B. C.; FAHRENHOLZ, T. M.; PAROCZAY, E. W.; EASTRIDGE, J. S.; SOLOMON, M. B. Effect of hydrodynamic pressure processing and aging on the tenderness and myofibrillar proteins of beef strip loins. **Journal of Muscle Foods**, v. 19, p. 74–97, 2008a.

BOWKER, B. C.; FAHRENHOLZ, T. M.; PAROCZAY, E. W.; SOLOMON, M. B. Effect of hydrodynamic pressure processing and aging on sarcoplasmic proteins of beef strip loins. **Journal of Muscle Foods**, v. 19, p. 175–193, 2008b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº 72718, de 29 de agosto de 1973. Estabelece normas gerais sobre irradiação de alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 ago. 1973.

_____. Ministério da Saúde. Portaria da Divisão Nacional da Vigilância Sanitária de Alimentos nº 9, de 08 de março de 1985. **Diário Oficial da União**, 13 mar. 1985.

_____. Ministério da Saúde. Portaria da Divisão Nacional da Vigilância Sanitária de Alimentos nº 30, de 25 de setembro de 1989. **Diário Oficial da União**, 28 set. 1989.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 21, de 26 de janeiro de 2001. Aprova o “Regulamento técnico para irradiação de alimentos”. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 29 jan. 2001.

BREWER, M. S. Irradiation effects on meat flavor : A review. **Meat Science**, v. 81, n. 1, p. 1–14, 2009. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.07.011>>.

BREWER, S. Irradiation effects on meat color – a review. **Meat Science**, v. 68, p. 1–17, 2004.

CFA/MA. Coordenação de Febre Aftosa. Ministério da Agricultura. **Febre Aftosa**, 2013. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/saude-animal/programas/febreaftosa>>. Acesso em: 14 fev. 2017.

CAROLINO, M. I.; RODRIGUES, M. I.; BRESSAN, M. C.; et al. pH e força de corte da carne de bovinos Alentejanos e Mertolengos. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, n. 1, p. 581–584, 2009.

COHEN, T. Aging of Frozen Parts of Beef. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 1174–1177, 1984.

COLLE, M. J.; RICHARD, R. P.; KILLINGER, K. M.; BOHLSCHEID, J.C.; GRAY, A. R.; LOUCKS, W. I.; DAY, R. N.; COCHRAN, A. S.; NASADOS, J. A.; DOUMIT, M. E. Influence of extended aging on beef quality characteristics and sensory perception of steaks from the gluteus medius and longissimus lumborum. **Meat Science**, v. 110, p. 32–39, 2015. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.06.013>>. Acesso em: 10 jan. 2107.

COLLE, M. J.; RICHARD, R. P.; KILLINGER, K. M.; BOHLSCHEID, J.C.; GRAY, A. R.; LOUCKS, W. I.; DAY, R. N.; COCHRAN, A. S.; NASADOS, J. A.; DOUMIT, M. E. Influence of extended aging on beef quality characteristics and sensory perception of steaks from the biceps femoris and semimembranosus. **Meat Science**, v. 119, p. 110–117, 2016. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.028>>. Acesso em 10 fev. 2017.

CROSS, H.R., CARPENTER, Z.L., SMITH, G.C. Effects of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness, **Journal of Food Science**, v. 38, n. 6, p. 998-1003, 1973.

CROUSE, J. D.; KOOHMARAIE, M. Effect of freezing of beef on subsequent postmortem aging and shear force. **Journal of food science**, v. 55, n. 2, p. 573–574, 1990.

DAMEN, F. W. M.; STEENBEKKERS, L. P. A. Consumer behaviour and knowledge related to freezing and defrosting meat at home: An exploratory study. **British Food Journal**, v. 109, n. 7, p. 511–518, 2007.

DAVIS, G. W.; DUTSON, T. R.; SMITH, G. C.; CARPENTER, Z. L. Fragmentation procedure for bovine longissimus muscle as an index of cooked steak tenderness. **Journal of Food Science**, v. 45, n. 4, p. 880-884, 1980.

DAVEY, C. L.; GILBERT, K. V. Studies in Meat Tenderness. 7. Changes in the Fine Structure of Meat During Aging. **Journal of food Science**, v. 34, p. 69–74, 1969.

DE PAULA, M. L. **Efeito do congelamento prévio à maturação na qualidade da carne de bovinos Nelore e F1 (Nelore x Simental) terminados a pasto e confinado**. 2013. 124p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2013.

DESTEFANIS, G.; BRUGIAPAGLIA, A.; BARGE, M. T.; DAL MOLIN, E. Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner-Bratzler shear force. **Meat Science**, v. 78, n. 3, p. 153–156, 2008.

DRANSFIELD, E. Intramuscular Composition and Texture of Beef Muscles. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 28, p. 833–842, 1977.

DU, M.; AHN, D.; NAM, K. .; SELL, J. . Influence of dietary conjugated linoleic acid on volatile profiles, color and lipid oxidation of irradiated raw chicken meat. **Meat Science**, v. 56, n. 4, p. 387–395, 2000.

EADY, M.; SAMUEL, D.; BOWKER, B. Effect of pH and postmortem aging on protein extraction from broiler breast muscle. **Poultry Science**, v. 93, n. 7, p. 1825-1833, 2014.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Boas práticas agropecuárias: Bovinos de corte**. 1. ed. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte. 2007. 86 p.

FAROUK, M.; SWAN, J. Effect of Muscle Condition Before Freezing and Simulated Chemical Changes During Frozen Storage on the pH and Colour of Beef. **Meat Science**, v. 50, n. 2, p. 245–256, 1998.

FAROUK, M. M.; KEMP, R. M.; CARTWRIGHT, S.; NORTH, M. The initial freezing point temperature of beef rises with the rise in pH: A short communication. **Meat Science**, v. 94, n. 1, p. 121–124, 2013. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.12.018>>. Acesso em 12 fev. 2017.

FAROUK, M. M.; WIELICZKO, K. J. Effect of diet and fat content on the functional properties of thawed beef. **Meat Science**, v. 64, p. 451–458, 2003.

FAROUK, M. M.; WIELICZKO, K. J.; MERTS, I. Ultra-fast freezing and low storage temperatures are not necessary to maintain the functional properties of manufacturing beef. **Meat Science**, v. 66, p. 171–179, 2003.

FU, A.-H.; SEBRANEK, J. G.; MURANO, E. A. Survival of *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* and *Escherichia coli* 0157 : H7 and Quality Changes After Irradiation of Beef Steaks and Ground Beef. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 5, p. 972–977, 1995.

- GIROUX, M.; LACROIX, M. Nutritional adequacy of irradiated meat - a review. **Food Chemistry**, v. 31, n. 4, p. 257–264, 1998.
- GOLL, D. E.; TAYLOR, R. G.; CHRISTIANSEN, J. A.; THOMPSON, V. F. Role of proteinases and protein turnover in muscle growth and meat quality. **44th Reciprocal Meat Conference**. p 25-36. American Meat Science Association. 1991.
- GOMIDE, L. A. M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. **Ciência e qualidade da carne: Fundamentos**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2013. 197p.
- GOMIDE, L. A. M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. **Tecnologia de abate e tipificação de carcaças**. Viçosa: UFV, 2014. 336p.
- GRAYSON, A. L.; KING, D. A.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M.; WHEELER, T. L. Freezing and thawing or freezing , thawing , and aging effects on beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 2735–2740, 2014.
- GROZDANOV, A. et al. Effect of low-dose irradiation and subsequent storage on the technological properties of beef. **European Meeting of Meat Research Workers**, p. 127-129, 1982.
- HANENIAN, R.; MITTAL, G. S. Effect of freezing and thawing on meat quality. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 2, p. 74–80, 2004.
- HEINEMANN, R. J. B.; PINTO, M. F.; PONSANO, E. H. G.; PERRI, S. H. V. Método Simples Para Estimar Encurtamento Pelo Frio Em Carne Bovina. **Ciência Rural**, v. 32, n. 2, p. 335–339, 2002.
- HERGENREDER, J. E.; HOSCH, J. J.; VARNOLD, K. A.; HAACK, A. L.; SENARATNE, L. S.; POKHAREL, S.; BEAUCHAMP, C.; LOBAUGH, B.; CALKINS, C. R. The effects of freezing and thawing rates on tenderness , sensory quality , and retail display of beef subprimals. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 483–490, 2013.
- HILL, F. The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. **Journal of Food Science**, v. 31, n. 2, p. 161–166, 1966. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1966.tb00472.x>>. Acesso em: 10 fev. 2017.

HONIKEL, K. O.; HAMM, R. **Measurement of water-holding capacity and juiciness**. In: PEARSON, A. M.; DUTSON, T. R. (Eds.). *Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products*. New York: Blackie Academic & Professional, p. 125-161, 1994.

HOPKINS, D. L.; ALLINGHAM, P. G.; COLGRAVE, M.; VAN DE VEN, R. J. Interrelationship between measures of collagen, compression, shear force and tenderness. **Meat Science**, v. 95, n. 2, p. 219–223, 2013. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.054>>. Acesso em: 10 fev. 2017.

HOPKINS, D.L.; LITTLEFIELD, P.J.; THOMPSON, J.M. A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. **Meat Science**, v. 25, p. 19-22, 2000.

HOROWITS, R.; KEMPNER, E. S.; BISHOP, M. E.; PODOLSKY, R. J. A physiological role for titin and nebulin in skeletal muscle. **Nature**, v. 323, n. 11, p. 160–164, 1986.

HOU, X.; LIANG, R.; MAO, Y.; ZHANG, Y.; NIU, L.; WANG, R.; LIU, C.; LIU, Y.; LUO, X. Effect of suspension method and aging time on meat quality of Chinese fattened cattle *M. Longissimus dorsi*. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 640–645, 2014. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.08.026>>. Acesso em 15 jan. 2017.

HUANG, L.; XIONG, Y. L.; KONG, B.; HUANG, X.; LI, J. Influence of storage temperature and duration on lipid and protein oxidation and flavour changes in frozen pork dumpling filler. **Meat Science**, v. 95, n. 2, p. 295–301, 2013. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.034>>. Acesso em: 15 fev. 2017.

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

HUGHES, J. M.; OISETH, S. K.; PURSLOW, P. P.; WARNER, R. D. A structural approach to understanding the interactions between colour , water-holding capacity and tenderness. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 520–532, 2014. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.05.022>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

HWANG, I. H.; DEVINE, C. E.; HOPKINS, D. L. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. **Meat Science**, v. 65, p. 677–691, 2003.

ILIAN, M. A.; BEKHIT, A. E.-D.; BICKERSTAFFE, R. The relationship between meat tenderization, myofibril fragmentation and autolysis of calpain 3 during post-mortem aging. **Meat Science**, v. 66, n. 2, p. 387–397, 2004.

JAYASOORIYA, S. D.; TORLEY, P. J.; D' ARCY, B. R.; BHANDARI, B. R. Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine Semitendinosus and Longissimus muscles. **Meat Science**, v. 75, p. 628–639, 2007.

JEREMIAH, L. E.; MARTIN, A. H. Histological and shear properties of bovine muscle and their alteration during postmortem ageing. **Meat Science**, v. 2, p. 169–180, 1978.

JOO, S. .; KAUFFMAN, R. .; KIM, B. .; PARK, G. . The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. **Meat Science**, v. 52, n. 3, p. 291–297, 1999.

KANATT, S. R.; CHAWLA, S. P.; SHARMA, A. Effect of radiation processing on meat tenderisation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 111, p. 1–8, 2015. Elsevier. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2015.02.004>>. Acesso em 10 jan. 2017.

KIM, Y. H. B.; LIESSE, C.; KEMP, R.; BALAN, P. Evaluation of combined effects of ageing period and freezing rate on quality attributes of beef loins. **Meat Science**, v. 110, p. 40–45, 2015. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174015300437>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

KIM, Y. H. B.; MEYERS, B.; KIM, H.; LICEAGA, A. M.; LEMENAGER, R. P. Effects of stepwise dry/wet-aging and freezing on meat quality of beef loins. **Meat Science**, v. 123, p. 57–63, 2017. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.09.002>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

KOOHMARAIE, M. Quantification of Ca²⁺-dependent protease activities by hydrophobic and ion-exchange chromatography. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 659–665, 1990.

KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, v. 36, p. 93–104, 1994.

KOOHMARAIE, M.; DOUMIT, M. E.; WHEELER, T. L. Meat Toughening Does Not Occur When Rigor Shortening Is Prevented. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 2935–2942, 1996.

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, n. 1, p. 34–43, 2006.

KOOHMARAIE, M.; SEIDEMAN, S. C.; SCHOLLMAYER, J. E.; DUTSON, T. R.; CROUSE, J. D. Effect of *post-mortem* storage on Ca⁺⁺-dependent proteases, their inhibitor and myofibril fragmentation. **Meat Science**, v. 19, p. 187–196, 1987.

KOOHMARAIE, M.; WHIPPLE, G.; KRETCHMAR, D. H.; CROUSE, J. D.; MERSMANN, H. J. Postmortem proteolysis in longissimus muscle from beef, lamb and pork carcasses. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 2, p. 617–624, 1991.

KUME, T.; TODORIKI, S. Food irradiation in Asia, the European Union, and the United States: a Status Update. **Radioisotopes**, v. 62, n. 5, p. 291–299, 2013.

KUTTINARAYANAN, P.; RAMANATHAN, R. Effects of low-dose irradiation and electrical stimulation on quality parameters of beef longissimus from *Bos indicus* x *Bos taurus* bulls. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, p. 1009–1015, 2010.

LAGERSTEDT, A.; ENFÄLT, L.; JOHANSSON, L.; LUNDSTRÖM, K. Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef *M. longissimus dorsi*. **Meat Science**, v. 80, p. 457–461, 2008.

LAKRITZ, L.; CARROLL, R. J.; JENKINS, R. K.; MAERKER, G. Immediate Effects of Ionizing Radiation on the Structure of Unfrozen Bovine Muscle Tissue. **Meat Science**, v. 20, p. 107–117, 1987.

LAWRIE, R. A.; SHARP, J. G.; BENDALL, J. R.; COLEBY, B. TREATMENT OF MEATS WITH IONISING RADIATIONS. VIII. - pH, Water-binding Capacity and Proteolysis of Irradiated Raw Beef and Pork during Storage, and the ATP-ase Activity of Irradiated Rabbit Muscle. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 12, p. 242–251, 1961.

LEE, J.; YOON, H.-S.; LEE, K.-H.; KIM, J.-H.; KIM, W.-J.; BYUN, M.-W. Conformational changes of myosin by gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 58, p. 271–277, 2000.

LEE, M.; SEBRANEK, J.; PARRISH JR., F. C. Accelerated Postmortem Aging of Beef Utilizing Electron- beam Irradiation and Modified Atmosphere Packaging. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 1, p. 133–136, 1996.

LEYGONIE, C.; BRITZ, T. J.; HOFFMAN, L. C. Oxidative stability of previously frozen ostrich Muscularis iliofibularis packaged under different modified atmospheric conditions. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 1171–1178, 2011.

LEYGONIE, C.; BRITZ, T. J.; HOFFMAN, L. C. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. **Meat Science**, v. 91, n. 2, p. 93–98, 2012. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.013>>. Acesso em: 10 jan.2017.

LIU, A.; NISHIMURA, T.; TAKAHASHI, K. Relationship Between Structural Properties of Intramuscular Connective Tissue and Toughness of Various Chicken Skeletal Muscles. **Meat Science**, v. 43, n. 1, p. 43–49, 1996.

MACHADO, M. M. **Efeito do congelamento e estocagem sobre a qualidade da carne bovina**. 2009. 35 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2009.

MARIANO, C. O. **Efeitos da radiação gama na conservação da carne bovina refrigerada**. 2004. 79 p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2004.

MARSH, B. B.; LEET, N. G. Studies in Meat Tenderness. III. The Effects of Cold Shortening on Tenderness. **Journal of Food Science**, v. 31, n. 3, p. 450–459, 1966. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1966.tb00520.x/full>>. Acesso em: 01 mar. 2017.

MATOS, N. J. M. **Diagnóstico da cadeia produtiva da pecuária de corte do Estado do Rio de Janeiro**: relatório de pesquisa. Rio de Janeiro: FAERJ: SEBRAE-RJ, 2010.

MCCORMICK, R. J. The Flexibility of the Collagen Compartment of Muscle. **Meat Science**, v. 36, p. 79–91, 1994.

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

MILLAR, S. J.; MOSS, B. W.; STEVENSON, M. H. The effect of ionising radiation on the colour of beef, pork and lamb. **Meat Science**, v. 55, p. 349–369, 2000.

MIYAGUSKU, L.; CHEN, F.; LEITÃO, M. F. DE F.; BAFFA, O. Avaliação Microbiológica e Sensorial Da Vida-Útil de Cortes de Peito de Frango Irradiados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 7–16, 2003.

MODI, V. K.; SAKHARE, P. Z.; SACHINDRA, N. M.; MAHENDRAKAR, N. S. Changes in quality of minced meat from goat due to gamma irradiation. **Journal of Muscle Foods**, v. 19, p. 430–442, 2008.

NAM, K. C.; AHN, D. U. Use of antioxidants to reduce lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated pork homogenates and patties. **Meat Science**, v. 63, p. 1–8, 2003.

NAM, K. C.; MIN, B. R.; PARK, K. S.; LEE, S. C.; AHN, D. U. Effects of Ascorbic Acid and Antioxidants on the Lipid Oxidation and Volatiles of Irradiated Ground Beef. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 5, p. 1680–1685, 2003.

NAM, K. C.; MIN, B. R.; YAN, H.; LEE, E. J.; MENDONCA, A.; WESLEY, I.; AHN, D. U. Effect of dietary vitamin E and irradiation on lipid oxidation, color, and volatiles of fresh and previously frozen turkey breast patties. **Meat science**, v. 65, n. 1, p. 513–521, 2003.

NAVEENA, B. M.; MENDIRATTA, S. K.; ANJANEYULU, A. S. R. Tenderization of buffalo meat using plant proteases from *Cucumis trigonus*

Roxb (Kachri) and *Zingiber officinale roscoe* (*Ginger rhizome*). **Meat Science**, v. 68, p. 363–369, 2004.

NOWAK, D. Enzymes in Tenderization of Meat – The System of Calpains and Other Systems – a Review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 61, n. 4, p. 231–237, 2011.

OBUZ, E.; DIKEMAN, M. E.; GROBBEL, J. P.; STEPHENS, J. W.; LOUGHIN, T. M. Beef longissimus lumborum, biceps femoris, and deep pectoralis Warner - Bratzler shear force is affected differently by endpoint temperature, cooking method, and USDA quality grade. **Meat Science**, v. 68, p. 243–248, 2004.

O'KEEFFE, M.; HOOD, D. E. Biochemical factors influencing metmyoglobin formation on beef from muscles of differing colour stability. **Meat Science**, v. 7, n. 3, p. 209–228, 1982.

OLIVEIRA, K. C. F.; SOARES, L. P.; ALVES, A. M. Irradiação de alimentos: Extensão da vida útil de frutas e legumes. **Saúde & Ambiente em Revista**, v. 7, n. 2, p. 52–57, 2012.

OLIVEIRA, L. B.; SOARES, G. J.; ANTUNES, P. L. Influência da maturação de carne bovina na solubilidade do colágeno e perdas de peso por cozimento. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 4, n. 3, p. 166–171, 1998.

OLSON, G. D.; PARRISH JR., F. C.; STROMER, M. H. Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during postmortem storage. **Journal of Food Science**, v. 41, p. 1036–1041, 1976.

ORNELLAS, C. B. D.; GONÇALVES, M. P. J.; SILVA, P. R.; MARTINS, R. T. Atitude do consumidor frente à irradiação de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 211–213, 2006.

PARLATO, A.; GIACOMARRA, M.; GALATI, A.; CRESCIMANNO, M. ISO 14470:2011 and EU legislative background on food irradiation technology: The Italian attitude. **Trends in Food Science & Technology**, v. 38, n. 1, p. 60–74, 2014. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2014.04.001>>. Acesso em 01 mar. 2017.

PASSOS, F. R. **Avaliação do uso da radiação gama na conservação de carnes**. 2009. 50 p. Monografia (Pós-Graduação) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2009.

PEARCE, K. L.; ROSENVOLD, K.; ANDERSEN, H. J.; HOPKINS, D. L. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes - A review. **Meat Science**, v. 89, n. 2, p. 111–124, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.007>>. Acesso em: 03 mar. 2017.

PEREIRA, A. S. C. Irradiação em alimentos. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 28, n. 324, p. 53-62, fev. 2004.

PETROVIC, L.; GRUJIC, R.; PETROVIC, M. Definition of the optimal freezing rate-2. Investigation of the physico-chemical properties of beef M. longissimus dorsi frozen at different freezing rates. **Meat Science**, v. 33, n. 3, p. 319–331, 1993.

POMPONIO, L.; ERTBJERG, P. The effect of temperature on the activity of μ - and m-calpain and calpastatin during post-mortem storage of porcine *longissimus* muscle. **Meat Science**, v. 91, n. 1, p. 50–55, 2012. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.12.005>>. Acesso em: 10 fev. 2017.

POTTER, N. N. **Food science**. The AVI Publishing Company, Inc., 1968.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias**. Viçosa: UFV, 2007, p. 599.

RHEE, M. S.; WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M. Variation in palatability and biochemical traits within and among eleven beef muscles. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 534–550, 2004.

RILEY, D. G.; JOHNSON, D. D.; CHASE JR., C. C.; et al. Factors influencing tenderness in steaks from Brahman cattle. **Meat Science**, v. 70, n. 2, p. 347–356, 2005.

ROWE, L. J.; MADDOCK, K. R.; LONERGAN, S. M.; HUFF-LONERGAN, E. Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through

inactivation of μ -calpain. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 3254–3266, 2004.

SAVAGE, A. W. J.; WARRISS, P. D.; JOLLEY, P. D. The Amount and Composition of the Proteins in Drip from Stored Pig Meat. **Meat Science**, v. 27, p. 289–303, 1990.

SILVA, A. L. C. Quando a união faz a força: Um estudo de caso da comunidade de São Felix do Xingu no combate ao desmatamento ilegal. In: ENCONTRO NACIONAL DA ANPPAS, 6., Belém, Pará, Brasil. **Anais...** p. 1-17, 2012. Disponível em: <<http://www.anppas.org.br/encontro6/anais/ARQUIVOS/GT5-851-596-20120701011426.pdf>>. Acessado em: 17 de novembro de 2015.>. Acesso em 10 jan. 2017.

SILVA, D. R. G.; FILHO, R. A. T.; CAZEDEY, H. P.; FONTES, P. R.; RAMOS, A. L.S.; RAMOS, E. M. Comparison of Warner–Bratzler shear force values between round and square cross-section cores from cooked beef and pork *Longissimus muscle*. **Meat Science**, v. 103, p. 1–6, 2015. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174014005208>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

SHANKS, B. C.; WULF, D. M.; MADDOCK, R. J. Technical note: The effect of freezing on Warner-Bratzler shear force values of beef longissimus steaks across several postmortem aging periods. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 8, p. 2122–2125, 2002.

SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M.; MILLER, M. F.; CROUSE, J. D.; REAGAN, J. O. An evaluation of tenderness of the *longissimus* muscle of *Angus* by Hereford versus Brahman crossbred heifers. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 171-177, 1991.

STANTON, C.; LIGHT, N. The Effects of Conditioning on Meat Collagen : Part 1- Evidence for Gross in situ Proteolysis. **Meat Science**, v. 21, p. 249–265, 1987.

STARKEY, C. P.; GEESINK, G. H.; COLLINS, D.; ODDY, V. H.; HOPKINS, D. L. Do sarcomere length , collagen content , pH , intramuscular fat and desmin degradation explain variation in the tenderness of three ovine muscles ? **Meat Science**, v. 113, p. 51–58, 2016. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.11.013>>. Acesso em: 12 jan. 2017.

STARKEY, C. P.; GEESINK, G. H.; ODDY, V. H.; HOPKINS, D. L. Explaining the variation in lamb longissimus shear force across and within ageing periods using protein degradation , sarcomere length and collagen characteristics. **Meat Science**, v. 105, p. 32–37, 2015. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.02.011>>. Acesso em: 13 jan. 2017.

STUBY, M. A.; LAMKEY, J. W.; DOLEZAL, H. G. The Effect of Freezing on Aging of Beef. **Animal Science Research Report**, p. 55–59, 1993.

TAYLOR, R. G.; GEESINK, G. H.; THOMPSON, V. F.; KOOHMARAIE, M.; GOLL, D. E. Is Z-Disk Degradation Responsible for Postmortem Tenderization? **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 1351–1367, 1995.

TORRESCANO, G.; SÁNCHEZ-ESCALANTE, A.; GIMÉNEZ, B.; RONCALÉS, P.; BELTRÁN, J. A. Shear values of raw samples of 14 bovine muscles and their relation to muscle collagen characteristics. **Meat Science**, v. 64, p. 85–91, 2003.

VAN WEZEMAEL, L.; DE SMET, S.; UELAND, Ø.; VERBEKE, W. Relationships between sensory evaluations of beef tenderness, shear force measurements and consumer characteristics. **Meat Science**, v. 97, n. 3, p. 310–315, 2014. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.07.029>>. Acesso em: 14 jan.2017.

VEISETH, E.; SHACKELFORD, S.; WHEELER, T.; KOOHMARAIE, M. Factors regulating lamb *longissimus* tenderness are affected by age at slaughter. **Meat Science**, v. 68, p. 635–640, 2004.

VIEIRA, C.; DIAZ, M. T.; MARTÍNEZ, B.; GARCÍA-CACHÁN, M. D. Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different states of ageing. **Meat Science**, v. 83, n. 3, p. 398–404, 2009. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.013>>. Acesso em: 14 jan.2017.

WAGNER, J. R.; AÑON, M. C. Effect of freezing rate on the denaturation of myofibrillar proteins. **Journal of Food Technology**, v. 20, p. 735–744, 1985.

WARNER, R. D.; GREENWOOD, P. L.; PETHICK, D. W.; FERGUSON, D. M. Genetic and environmental effects on meat quality. **Meat Science**, v. 86, n.

1, p. 171–183, 2010. The American Meat Science Association. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.042>>. Acesso em: 10 dez. 2016.

WHEELER, T. L.; SAVELL, J. W.; CROSS, H. R.; LUNT, D. K.; SMITH, S. B. Mechanisms associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 4206–4220, 1990.

WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M. Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 958–965, 2000.

WHIPPLE, G.; KOOHMARAIE, M. Freezing and calcium chloride marination effects on beef tenderness and calpastatin activity. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 10, p. 3081–3085, 1992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1429284>>. Acesso em: 05 mar. 2017.

WHIPPLE, G.; KOOHMARAIE, M.; DIKEMAN, M. E.; CROUSE, J. D.; HUNT, M. C.; KLEMM, R. D. Evaluation of attributes that affect *longissimus* muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 2716–2728, 1990.

XAVIER, M. D. L. P.; DAUBER, C.; MUSSIO, P.; DELGADO, E.; MAQUIEIRA, A.; SORIA, A.; CURUCHET, A.; MÁRQUEZ, R.; MÉNDEZ, C.; LÓPEZ, T. Use of mild irradiation doses to control pathogenic bacteria on meat trimmings for production of patties aiming at provoking minimal changes in quality attributes. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 383–391, 2014. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.037>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

YANG, H. S.; LEE, E. J.; MOON, S. H.; et al. Effect of garlic, onion, and their combination on the quality and sensory characteristics of irradiated raw ground beef. **Meat Science**, v. 89, n. 2, p. 202–208, 2011. Elsevier Ltda. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.020>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

YOOK, H.-S.; LEE, J.-W.; LEE, K.-H.; et al. Effect of gamma irradiation on the microstructure and post-mortem anaerobic metabolism of bovine muscle. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 61, p. 163–169, 2001.

YOON, K. S. Effect of gamma irradiation on the texture and microstructure of chicken breast meat. **Meat Science**, v. 63, p. 273–277, 2003.

YOUNG, O. A.; BRAGGINS, T. J. Tenderness of Ovine Semimembranosus : Is Collagen Concentration or Solubility the Critical Factor ? **Meat Science**, v. 35, p. 213–222, 1993.

ZABIELSKY, J.; KIJOWSKI, J.; FISZER, W.; NIEWIAROWICZ, A. The Effect of Irradiation on Technological Properties and Protein Solubility of Broiler Chicken Meat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 35, p. 662–670, 1984.

ZEOLA, N. M. B. L.; DE SOUZA, P. A.; DE SOUZA, H. B. A.; SOBRINHO, A. G. DA S. Parâmetros qualitativos da carne ovina : um enfoque à maturação e marinação. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 102, p. 215–224, 2007.