



CAROLINA NAVES AROEIRA

**EFEITO DO CONGELAMENTO PRÉVIO À
MATURAÇÃO NA MACIEZ E COR DA CARNE
DE TOURINHOS NELORE E ABERDEEN
ANGUS**

LAVRAS – MG

2014

CAROLINA NAVES AROEIRA

**EFEITO DO CONGELAMENTO PRÉVIO À MATURAÇÃO NA
MACIEZ E COR DA CARNE DE TOURINHOS NELORE E ABERDEEN
ANGUS**

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.

Orientador

Dr. Eduardo Mendes Ramos

LAVRAS - MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Aroeira, Carolina Naves.

Efeito do congelamento prévio à maturação na maciez e cor da
carne de tourinho Nelore e Aberdeen Angus / Carolina Naves
Aroeira. – Lavras : UFLA, 2014.

111 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Eduardo Mendes Ramos.

Bibliografia.

1. *Bos indicus*. 2. *Bos taurus*. 3. Proteólise. 4. Força de
cisalhamento. 5. Metamioglobina. 6. CIELAB. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 664.9252

CAROLINA NAVES AROEIRA

**EFEITO DO CONGELAMENTO PRÉVIO À MATURAÇÃO NA
MACIEZ E COR DA CARNE DE TOURINHOS NELORE E ABERDEEN
ANGUS**

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 10 de julho de 2014.

Dra. Alcinéia de Lemos Souza Ramos	UFLA
Dr. Márcio Machado Ladeira	UFLA
Dr. Paulo Rogério Fontes	UFV
Dr. Lúcio Alberto de Miranda Gomide	UFV

Dr. Eduardo Mendes Ramos
Orientador

**LAVRAS - MG
2014**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, por sempre se fazer presente em meu caminho e me dar a melhor direção para seguir.

Aos meus pais, Nádía e Hélio, pelo amor incondicional, e são os exemplos que procuro seguir na minha vida. À minha irmã, Ana Paula, amiga e companheira das horas alegres e tristes, sempre com aquele carinho especial de irmã, uma pessoa que sempre me apoiou e a que eu sei que posso contar durante toda a minha vida.

Ao meu orientador, Eduardo Mendes Ramos, obrigada pela confiança, amizade e, principalmente, pelos ensinamentos que foram muitos, um profissional dedicado e extremamente capaz, muito obrigada por tudo!

Aos professores da banca examinadora, Alcinéia de Lemos Souza Ramos, obrigada pelas portas abertas em seu laboratório e pelo carinho. Ao professor Paulo Rogério Fontes, pela ajuda grandiosa na reta inicial e final do Mestrado. Ao professor Márcio Machado Ladeira, pela parceria no projeto e apoio dado. E, ao professor Lúcio Alberto de Miranda Gomide, por ceder o seu laboratório na UFV e seu técnico Vandick (aqui ficam também meus agradecimentos a este) e pela disponibilidade e ajuda. Agradeço a todos por poder engrandecer este trabalho.

Agradeço aos meus professores da Medicina Veterinária da UFLA, por todo o ensinamento. Aos professores da Ciência dos Alimentos por todo o conhecimento que adquiri, e a secretária Lu.

Aos meus amigos de trabalho do Laboratório de Carnes, os quais fizeram com que o ambiente se tornasse a cada dia um ambiente prazeroso. Obrigada também pela ajuda e apoio sempre: Élide, Ítalo, Henrique Cazedey, Bruninha, Gabi, Douglas (Pombo), Érika, Giselle, Cecília, Abel, Andressa, Monalisa, Ligiane, Thales Coutinho, Ewerton, Jeferson, Mariane, Cris, Taisinha,

Ana Paula, Letícia, realmente uma grande família. Ao meu parceiro de projeto Robledo, obrigada também pela hospedagem em Viçosa, foi extremamente gratificante conhecer Robledão, Mirinha e Livinha. As grandes amigas que nos ajudaram no início do projeto Ísis e Mariana. À Tharcilla e ao Flávio pelo companheirismo durante as análises.

Gostaria de agradecer também às minhas eternas amigas de infância e da vida toda, as meninas de Cássia: Vars, Tatiane Fortes e seu companheiro e meu amigo Vitor, Letícia, Tina, Mari, Thaís, Olívia, Amandita, Laurinha, Tila, Lud, Iara, Camila, Sá. Ao meu amigo Júlio pela sempre amizade e companheirismo.

Agradecer a minha grande profissional e grande amiga: Jacqueline Rodrigues. Obrigada também por ter formado uma turma tão unida e de pessoas tão especiais que para sempre morarão em meu coração: Simone, Lily, Mel, Flávia, Henrique, Carneiro e Ju.

À minha família de Lavras: Fred, Vars, Bru, Biru e Lígia. À Ju Vieira e Alinne: amigas que sempre levarei comigo onde estiver. Às amigas do estágio em Campinas, ao ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos, em especial, ao CTC- Centro de Tecnologia de Carnes, pela oportunidade de estágio.

Às amigas as quais tive oportunidade de conhecer profundamente, pois dividimos o mesmo teto: Vars, Lígia, Biru, Galega, Paula e Janine. Ao pessoal da Zootecnia (UFLA) pela parceria, em especial ao aluno Rafael.

À família Aroeira, em especial, Dani, Toni e Luca. À família Naves em especial tia Kátia (*in memoriam*), pessoa espetacular que fez parte da minha formação, tia Nara e demais.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro ao projeto. E à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de pesquisa (mestrado/CAPES).

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), que foi uma verdadeira mãe na minha vida, onde me formei em Medicina Veterinária e agora no Mestrado, Universidade esta que carregarei com muito orgulho o nome por onde passarei!

A todos aqueles que me apresentaram de forma direta e indireta a esse mundo encantador que é o da Pesquisa. Aos meus amigos espalhados pelo mundo, a todos vocês meu muito obrigado e sempre nos encontraremos.

E a todos aqueles que de alguma forma atravessaram meu caminho e deixaram seus rastros e exemplos a serem seguidos, sempre terão minha lembrança, consideração e agradecimento!

RESUMO GERAL

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito do congelamento prévio à maturação sobre a maciez e coloração da carne de bovinos das raças Nelore e Aberdeen Angus. Amostras do músculo *Longissimus thoracis* foram submetidas a dois tratamentos: maturação convencional e congelamento (-20 °C por 40 dias) seguido do descongelamento e períodos de maturação. As carnes foram avaliadas após 0, 7, 14 e 21 dias de maturação (1 °C). O congelamento aumentou ($P < 0,05$) a purga, a perda por cozimento e as perdas de exsudado totais durante toda a maturação e, apesar de favorecer ($P < 0,05$) a proteólise durante a maturação nas carnes de ambas as raças, uma redução na força de cisalhamento foi observada ($P < 0,05$) apenas nas carnes de Aberdeen Angus e apenas no tempo zero. O congelamento também favoreceu ($P < 0,05$) a formação da metamioglobina nas carnes durante a maturação, especialmente nas carnes de animais Nelores. As carnes congeladas apresentaram menores ($P < 0,05$) valores de luminosidade (L^*) e maiores ($P < 0,05$) valores nos índices de vermelho (a^*), de amarelo (b^*), saturação (C^*) e tonalidade (h^*) nos primeiros dias de armazenamento, se deteriorando rapidamente durante a maturação. Entretanto, no 21º dia de maturação, os índices de cor L^* , a^* e C^* das carnes congeladas foram similares aos das carnes não congeladas no tempo zero de maturação. Carnes de animais da raça Nelore apresentaram maiores ($P < 0,05$) perdas de exsudado e menores comprimentos de sarcômero, sendo menos estáveis ao congelamento e se apresentando mais claras e de tonalidade mais amarelada e menos intensa do que a de animais Aberdeen Angus. Os resultados sugerem que o amaciamento na carne pelo congelamento prévio à maturação pode ser uma alternativa para resolver o problema de inconsistência na maciez, mas a estabilidade da cor da carne embalada a vácuo é reduzida, sendo estes efeitos dependentes do genótipo animal.

Palavras-chave: *Bos indicus*. *Bos taurus*. Proteólise. Força de cisalhamento. Metamioglobina. CIELAB.

GENERAL ABSTRACT

This paper aims to assess the freezing prior to the aged on the tenderness and coloration of bovine animal's meat on the Nelore and Aberdeen Angus breed. Samples of the muscles were submitted to two processing: conventional aged and freezing (-20 °C for 40 days) straight to defrosting and periods of aged. The meats were assessed after 0, 7, 14 and 21 days of aged (1 °C). The freezing increased ($P < 0.05$) the purge and the losses of total exudate during all aged and, although favoring the proteolysis during the aged in meats of both breeds, the reduction of shear force was noted ($P < 0.05$) only in the Aberdeen Angus's meat and only at time zero. The freezing also supported ($P < 0.05$) the formation of metmyoglobin in the meats during the aged, specially in the Nelore's meat. The frozen meats showed lower lightness (L^*) and higher ($P < 0.05$) values in the redness (a^*), yellowness (b^*), chroma (C^*) and tone (h^*) in the first days of storage, deteriorating fastly during the aged. However, in the 21st day on aged, the color indices L^* , a^* and C^* of the frozen meats were similar to the not frozen in time zero of aged. Nelore's meat show higher ($P < 0.05$) losses of exudate and lower sarcomere length, being less stable to freezing and having a lighter color and more yellowish and less intense than Aberdeen Angus animals. The results suggest that the freezing prior to the aged can be an alternative to solve the problem of inconsistency in meat tenderness, but the color stability of the vacuum packed meat is reduced, being this effects animal genotype dependent.

Keywords: *Bos indicus*. *Bos Taurus*. Proteolysis. Shear force. Metmyoglobin. CIELAB.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Produção brasileira de carne bovina	12
2.2	A maciez e fatores que a influenciam	14
2.2.1	Gordura intramuscular	16
2.2.2	Efeito do componente miofibrilar	16
2.2.3	Efeito do comprimento de sarcômero	18
2.2.4	Efeito da ação enzimática	19
2.3	A cor das carnes	21
2.4	O processo de maturação	24
2.5	Efeito do congelamento	25
	REFERÊNCIAS	30
	ARTIGO 1 - EFEITOS DO CONGELAMENTO PRÉVIO À MATURAÇÃO NA MACIEZ DA CARNE DE ANIMAIS <i>Bos indicus</i> E <i>Bos taurus</i>	38
	ARTIGO 2 - EFEITOS DO TEMPO DE MATURAÇÃO NA COLORAÇÃO DA CARNE DESCONGELADA DE BOVINOS DA RAÇA NELORE E ABERDEEN ANGUS	76

1 INTRODUÇÃO

A maciez da carne é a primeira característica avaliada quando se relacionam os aspectos qualitativos desejados na produção da carne bovina. Com isso, tem-se desenvolvido várias tecnologias a fim de aumentar a maciez em carnes tanto no período *ante mortem* quanto no *post mortem*. No período *post mortem*, um processo muito utilizado pelas indústrias cárneas a fim de atingir essa finalidade é a maturação a qual se caracteriza por favorecer a maior atividade proteolítica das proteases responsáveis pelo amaciamento em carnes.

Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne - ABIEC (2014), cerca de 80% do rebanho brasileiro é composto por animais zebuínos (*Bos indicus*), onde 90% destes estão representados pela raça Nelore. Embora bem adaptados às condições brasileiras, os animais *Bos indicus* são reconhecidos por produzirem carne com maior resistência ao corte do que carnes de raças europeias (*Bos taurus*), devido à maior quantidade de calpastatina presente no músculo de animais zebuínos, que inibe a ação das calpaínas, principais proteases envolvidas no processo de maturação. Raças europeias, como a Aberdeen Angus, vêm se destacando na região Sul do Brasil.

Recentemente, alguns trabalhos relataram que o congelamento e descongelamento da carne pode ser uma alternativa para se reduzir a ação da calpastatina, minimizando, portanto, os seus efeitos e favorecendo a maciez da carne. No entanto, a maioria dos estudos avaliou os efeitos do congelamento após a maturação da carne, sendo poucos os estudos que avaliaram os efeitos do congelamento prévio à maturação. Apesar de poder constituir uma alternativa para o favorecimento da maciez, o congelamento e descongelamento também podem contribuir para uma rápida deterioração da coloração da carne, reduzindo significativamente a sua vida útil no varejo.

Nenhum relato científico dos efeitos do congelamento prévio à maturação na carne de animais *Bos indicus* foi encontrado na literatura. Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar os efeitos da maturação da carne após o armazenamento congelado sobre a maciez e coloração de contrafilés (*M. Longissimusthoracis*) bovinos de animais das raças Aberdeen Angus e Nelore, criados sob as mesmas condições.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produção brasileira de carne bovina

A bovinocultura ocupa posição de destaque no contexto do agronegócio, e é responsável pela renda de milhões de brasileiros e pela geração de emprego nas diversas áreas do conhecimento. No cenário mundial o Brasil se destaca com o maior rebanho comercial do mundo, se caracterizando como o maior exportador de carne bovina e maior produtor de carne (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2014).

Fatores como a grande extensão territorial, clima tropical, capacitação de profissionais e avanços tecnológicos permitem a pecuária de corte ocupar posição de destaque no produto interno bruto (PIB) do país. O Brasil, por ser um país de altas proporções continentais, e apresentar grande diversidade de solo e clima, propicia a criação de diferentes raças, e possibilita sua criação em sistemas de produção distintos.

A principal raça que representa o Brasil nesta atividade é o Nelore (*Bos indicus*) e apresentam características que favorecem sua criação no país em contrapartida a animais do grupo genético *Bos taurus* os quais segundo Whipple et al. (1990) são mais sensíveis aos efeitos do clima tropical e subtropical.

Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC), cerca de 80% do rebanho brasileiro são compostos por animais zebuínos (*Bos indicus*), onde 90% destes estão representados pela raça Nelore (ABIEC, 2014). Adaptados às condições brasileiras são encontrados por toda a sua extensão e, representam a maioria dos bovinos de corte no Brasil (VAZ et al., 2001).

Na região Sul do Brasil, devido às baixas temperaturas e pastagens de alto valor nutritivo, pode-se observar a criação de animais das raças taurinas

(*Bos taurus*), de origem europeia, dentre as quais se destacam o Aberdeen Angus, Red Angus, o Hereford, o Simentale o Charolês, raça continental mais criada no Rio Grande do Sul (VAZ et al., 2001).

As raças europeias são caracterizadas pelo alto potencial de crescimento, altos pesos de abate e ao compará-las as raças zebuínas, estas apresentam baixas taxas de crescimento, e carcaça com menor aceitabilidade por, principalmente, produzirem carne com maior resistência ao corte. No entanto, as raças zebuínas apresentam um desempenho melhor em ambientes tropicais, onde agentes estressantes como altas temperaturas, ectoparasitas e umidade estão presentes (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2014).

Quanto à qualidade da carne, diversos estudos apontam significativas diferenças entre carnes de *Bos taurus* x *Bos indicus*. A extensão da proteólise induzida pelas calpaínas difere entre *Bos indicus* e *Bos taurus* e diversos trabalhos mostram que à medida que a proporção de *B. indicus* aumenta, ocorre uma redução na maciez da carne (CROUSE; CUNDIFF; KOCH, 1989; MARSHALL, 1994; RESTLE; VAZ; QUADROS, 1999; WHIPPLE et al., 1990). Segundo Shackelford et al. (1994), a diminuição da maciez em *Bos indicus* está associada com a grande atividade da calpastatina 24 horas *post mortem*. As calpastatinas são inibidores endógenos das enzimas proteolíticas, as calpaínas, as quais são responsáveis por promover a degradação das proteínas miofibrilares, levando à maior maciez da carne.

Shackelford et al. (1991), avaliando músculos *longissimus* de bovinos Angus-Hereford (taurino) e 5/8 Brahman (zebuíno), encontraram maior força de cisalhamento nos animais zebuínos. Contudo, a atividade das calpaínas I e II não foi afetada pelo cruzamento, mas a atividade da calpastatina foi mais elevada nos animais 5/8 Brahman, tendo o autor concluído que o aumento na força de cisalhamento em bovinos 5/8 Brahman foi resultado da maior atividade da

calpastatina. Outros fatores também podem ter relação com a maciez da carne desses diferentes grupos genéticos, como: comprimento do sarcômero e teor e solubilidade do tecido conectivo (colágeno).

2.2 A maciez e fatores que a influenciam

A qualidade é o principal fator responsável pela aceitação de um produto alimentício. A qualidade de carnes leva em consideração tudo aquilo que a influencia desde fatores relacionados à aparência do produto como cor, suculência aparente (exsudação), gordura visível (marmoreio) que são determinantes no ato de sua compra, e fatores envolvidos com a degustação, como o sabor e a textura. Estes são denominados fatores de aceitabilidade sensorial, sendo dependentes entre si, uma vez que uma característica interfere diretamente na outra, e são responsáveis pela decisão na compra e aceitabilidade da carne (RAMOS; GOMIDE, 2007). Segundo Destefanis et al. (2008), a opinião do consumidor é a que vai definir o valor e justificar a compra do produto final.

A maciez da carne é a principal característica de aceitabilidade pelos consumidores, sendo fator determinante na decisão de compra do produto (ALARCON-ROJO; DRANSFIELD, 1995; CROUSE; CUNDIFF; KOCH, 1989; KOOHMARAIE; GEESINK, 2006; NOWAK, 2011; WHIPPLE et al., 1990). A maciez é considerada um atributo da textura, onde carnes macias são aquelas que apresentam textura macia e/ou de pouca resistência ao corte (RAMOS; GOMIDE, 2007).

A maciez da carne é influenciada por vários fatores como a estimulação elétrica, suspensão pélvica, utilização de cloreto de cálcio, a quantidade e natureza química do colágeno, a raça, extensão da proteólise pós-abate, velocidade da queda do pH, temperatura da carne no momento do *rigor mortis*,

manejo de câmara fria e a maturação (HEINEMANN; PINTO; ROMANELLI, 2003). Dentre esses fatores, quatro são considerados mais importantes na variação da maciez: proteólise *post mortem*; quantidade de gordura intramuscular (marmorização); estado do tecido conectivo e estado de contração do músculo (HADLICH et al., 2006). Para Koochmaraie (1994) a proteólise *post mortem* é considerada a mais importante, além, dos fatores que a influenciam como taxa de glicólise, pH final e taxa de declínio da temperatura.

Outro fator importante relacionado à maciez é o teor de água presente na carne, a qual é dependente de fatores intrínsecos como a purga e a capacidade de retenção de água (CRA). Além desses, tem-se a perda de peso por cozimento (PPC), característica considerável da carne que está mais relacionada à sua suculência, a qual está ligada ao processo de facilidade no ato da mastigação e favorecimento do contato do aroma do produto com as papilas gustativas, sendo, portanto, atributo importante de qualidade da carne que deve ser considerado (AASLYNG et al., 2003).

Contudo, a perda de peso por cozimento é influenciada pelo modo de preparo da carne e pela temperatura final de cozimento. Ao relacionarem a temperatura de cozimento, atributos sensoriais e distribuição de água na carne suína, Bertram, Aaslyng e Andersen (2005) observaram que a redução na suculência e maciez da carne foi maior à medida que a temperatura final de cozimento aumentava, atribuindo isso às alterações na distribuição de água pela carne.

A força de cisalhamento é considerada como o método mais comum indicativo de maciez da carne bovina, geralmente medido através da *Warner-Bratzlershear force*, método que consegue explicar algumas variações que ocorre no método subjetivo medido através da análise sensorial (SHACKELFORD; WHEELER; KOOHMARAIE, 1999).

2.2.1 Gordura intramuscular

Na carne, a gordura intramuscular ou de marmoreio, está distribuída entre os feixes de fibras musculares, e sua quantidade é dependente da gordura presente na carcaça (SCOLLAN et al., 2006). Seu acúmulo está relacionado com o desenvolvimento e nutrição do animal, além da predisposição genética, sendo, no entanto, desconhecido o tempo e o desenvolvimento de marmoreio para esta característica (WANG et al., 2009).

A gordura intramuscular é a principal característica relacionada com a qualidade da carne em um sistema de classificação (CHAMBAZ et al., 2003; TATUM; SMITH; CARPENTER, 1982). Possui uma grande influência na maciez e, conseqüentemente, na palatabilidade do produto, em que está relacionada com sua suculência e aroma, além de ser considerada de interesse à saúde humana, devido à composição de seus ácidos graxos (SCOLLAN et al., 2006).

Quanto às raças, há diferenciação na quantidade depositada de gordura intramuscular, a qual é influenciada pela idade e peso do animal (CHAMBAZ et al., 2003), além do sistema de criação, do sexo e da localização anatômica do músculo. Tatum, Smith e Carpenter (1982) associam a maciez com a gordura intramuscular por esta promover a redução da taxa de temperatura da carcaça durante o processo de refrigeração *post mortem*, onde animais com maior gordura de marmoreio apresentam menor velocidade de queda na temperatura da carcaça, o que leva a um aumento da extensão da autólise *post mortem*, e conseqüentemente um maior favorecimento da maciez.

2.2.2 Efeito do componente miofibrilar

As miofibrilas são estruturas contráteis que se encontram exclusivamente no interior da fibra muscular, e são responsáveis pela aparência estriada do músculo esquelético. As proteínas miofibrilares exercem um importante papel na estrutura e no metabolismo da fibra muscular, e representam 50-60% das proteínas totais do músculo esquelético (GOLL et al., 1992). São formadas pelos miofilamentos grossos, as miosinas, e os miofilamentos finos, as actinas as quais são menos espessas e se encontram dispostas nos dois lados da linha vertical denominada linha Z, formando a banda I (clara). Já as miosinas estão ligadas à linha M e formam a banda A (escura).

Durante o processo *post mortem*, a carne se torna mais macia, devido às reações que envolvem um sistema enzimático cuja finalidade é a de degradar as proteínas que constituem a estrutura miofibrilar, como a nebulina, titina, vinculina, desmina e distrofina, que segundo Taylor et al. (1995), ocorre dentro de três dias *post mortem*, e após esse período, o principal fator que parece contribuir para a maciez *post mortem* é a degradação da linha Z. Essa degradação envolve o complexo sistema enzimático das calpaínas/calpastatinas, o qual será discutido, e têm sido apontado como o principal fator no processo de amaciamento da carne (KOOHARAIE, 1996).

Em seus estudos, Koohmaraie (1994) observou as seguintes modificações químicas e estruturais que ocorrem no período *post mortem*, quanto aos componentes miofibrilares da carne: como visto há degradação e/ou enfraquecimento da linha Z; degradação da proteína desmina e da titina a qual é responsável pela ligação dos filamentos de miosina, no sentido longitudinal das miofibrilas; a degradação, também, da proteína nebulina responsável pelas ligações transversais na banda I dos sarcômeros; o desaparecimento da troponina T e simultaneamente o aparecimento de polipeptídeos com peso molecular entre 28 e 32 kDa; aparecimento de um polipeptídeo de PM de 95 kDa; e segundo este autor as proteínas contráteis, a miosina e a actina não são afetadas. Destes, a

degradação da linha Z e das proteínas desmina e titina são os responsáveis pela fragilidade crescente das miofibrilas durante o processo denominado de maturação.

2.2.3 Efeito do comprimento de sarcômero

O sarcômero constitui a unidade contrátil das miofibrilas e corresponde à distância entre duas linhas Z onde se localizam as actinas e as miosinas em sua faixa central. É considerado como a unidade básica das miofibrilas e são responsáveis pelos ciclos de contração e relaxamento.

Na contração muscular os filamentos de actina deslizam sobre os de miosina (ZEOLA et al., 2007) ocasionando um encurtamento do sarcômero, de modo que a medida que este diminui, aumenta-se a resistência da carne e reduz a sua maciez (WATANABE; DALY; DEVINE, 1996). Segundo Koohmaraie (1996), o encurtamento do sarcômero resulta no endurecimento da carne nas primeiras 24 horas *post mortem*.

Ao avaliar carnes de bovinos de diferentes idades, durante 12 dias de armazenamento a frio, Kolczak et al. (2003) observaram aumento no comprimento do sarcômero, principalmente pelo alargamento das bandas I, e também algumas mudanças na banda A. Sua intensidade e tempo dependem da idade do animal (BOUTON et al., 1978) e da posição anatômica do músculo, sendo mais rápida e intensa em animais jovens (KOLCZAK et al., 2003).

Segundo Bouton et al. (1978), o comprimento do sarcômero em amostras de carne bovina, diferem quanto ao grau de acabamento, uma vez que foram maiores quando relacionados com um maior teor de gordura intramuscular e, aparentemente, com o peso da carcaça. O que pode ocorrer devido à proteção que a gordura promove na carcaça ao diminuir a velocidade

de seu resfriamento, além de prevenir o fenômeno denominado de encurtamento pelo frio (HEINEMANN et al., 2002).

2.2.4 Efeito da ação enzimática

Logo após o abate, já começam a ocorrer mudanças no tecido muscular e essas modificações sofrem influência da temperatura ambiente, da umidade relativa do ar e da atividade das enzimas proteolíticas endógenas (BOAKYE; MITTAL, 1993).

As proteases são enzimas localizadas dentro das fibras musculares e estão inativas na condição do músculo vivo. Existem três sistemas enzimáticos responsáveis pela proteólise dos componentes estruturais das miofibrilas: o sistema das catepsinas; o complexo multicatalítico de proteases (MCP); e o sistema enzimático das calpaínas (KOOHMARAIE, 2006; NOWAK, 2011).

No período *post mortem*, as mudanças que ocorrem na atividade da ATPase levam à incapacidade do retículo sarcoplasmático de reter o cálcio, resultando no aumento da concentração desses íons no sarcoplasma e consequente ativação do sistema enzimático das calpaínas (DRANSFIELD, 1994). O sistema proteolítico da calpaína tem um importante papel no amaciamento da carne durante o armazenamento *post mortem*. Goll et al. (1992) e Taylor et al. (1995) observaram que o sistema das calpaínas tem um papel inicial na degradação das miofibrilas, onde removem seletivamente a linha Z e degradam a titina, nebulina, proteína C, tropomiosina e troponina.

As calpaínas, proteases neutras ativadas pelo íon cálcio, correspondem a 14 proteases de cisteína, onde no músculo esquelético o sistema das calpaínas é basicamente constituído de três enzimas dependentes de cálcio: a calpaína I (μ), a calpaína II (m), e a calpaína III (p94), além de um inibidor específico, a calpastatina. A ativação da μ - calpaína ocorre por volta de 6 horas *post mortem*,

enquanto o pH se encontra acima de 6,0 em concentrações de íons cálcio no sarcoplasma de 10^{-4} mol (NOWAK, 2011).

A causa primária da maturação pode ser atribuída à μ -calpaína, sendo a chave para a proteólise (KOOHMARAIE et al., 2002). Estudos realizados por Kim, Luc e Ronsevoid (2013), em carnes de cordeiros, demonstraram que carnes de cordeiros que tiveram uma maior extensão da atividade da μ -calpaína resultaram em uma maior degradação miofibrilar.

Quanto à m-calpaína, se a carne não for tratada com níveis milimolares (mM) de cálcio, sua função parece não estar envolvida no amaciamento *post mortem*. Em relação à calpaína III, estudos ainda estão sendo realizados a fim de determinar sua função (ILIAN; BEKHIT; BICKERSTAFFE, 2004). A calpaína III influencia a proteólise da titina e da nebulina, desempenhando também um importante papel no amaciamento da carne (NOWAK, 2011).

Apesar do importante papel das calpaínas na maturação, o efeito inibidor da calpastatina, proteína também ativada pelo íon cálcio presente no sarcoplasma, apresenta uma grande correlação com a maciez da carne conservada sob refrigeração a 1 °C, determinada 24 horas *post mortem*, em que sua atividade está relacionada com a maciez final da carne (BOEHM et al., 1998).

As quantidades de calpaínas e de calpastatinas dependem das espécies animais, da raça, do tipo de músculo e de sua atividade (NOWAK, 2011), além de fatores como pH, temperatura e concentração de cálcio. A concentração de cálcio necessária para que a calpastatina se ligue a calpaína é praticamente a mesma ou menor do que a concentração necessária para ativar a m-calpaína, indicando que o aumento na concentração do íon cálcio induziria primeiro a ligação da calpastatina com a calpaína, antes de ativar a reação proteolítica destas (GOLL et al., 1992).

As catepsinas são proteases de cisteína que permanecem retidas nos lisossomos e são liberadas com a queda da temperatura e, especialmente, do pH nas condições *post mortem*. Existem cerca de 20 catepsinas envolvidas na proteólise do músculo, e essas são muito ativas na degradação da linha Z das troponinas e da proteína C, e degradam lentamente a tropomiosina, nebulina e α -actinina (CALKINS; SEDEIMAN, 1988).

O complexo multicatalítico de proteases (MCP), proteossoma 20S, estão localizados nos músculos e no citoplasma e alguns estudos evidenciam sua contribuição para o amaciamento da carne. Porém, segundo Goll et al. (1992), parece pouco provável que o proteossoma seja capaz de enfraquecer as miofibrilas intactas antes que as mesmas sejam degradadas em filamentos.

2.3 A cor das carnes

Consumidores associam a aparência do produto como principal fator de qualidade que irá decidir seu ato de compra e com isso acabam usando a coloração da carne como indicador de frescor e até de salubridade (BOAKYE; MITTAL 1996; MANCINI; HUNT, 2005).

Quando a carne bovina se apresenta na coloração vermelho brilhante, os consumidores a associam com carne fresca e rejeitam àquelas que possuem a coloração amarronzada. Segundo Honikel (1998), a coloração da carne é uma característica visual que leva a primeira impressão crítica dos consumidores e pode ser medida tanto subjetivamente quanto objetivamente.

A mioglobina é a principal proteína responsável pela coloração das carnes, apesar de outras proteínas como a hemoglobina e o citocromo C desempenharem um pequeno papel. É o estado químico da mioglobina que irá definir a coloração aparente da carne (MANCINI; HUNT, 2005).

Existem três formas químicas da mioglobina responsáveis pela cor da carne fresca: a deoximioglobina quando o ligante presente na sexta valência da proteína é o ferro no seu estado ferroso Fe^{+2} , o que resulta na coloração vermelho púrpura; a metamioglobina, resultado da descoloração da carne através da oxidação dos metais ferrosos (Fe^{+2}) da mioglobina para o estado férrico (Fe^{+3}) e responsável pela coloração amarronzada da carne; e a oximioglobina resultando na coloração vermelha brilhante (RAMOS; GOMIDE, 2007).

A cor vermelho brilhante, a preferida pelos consumidores, depende de alguns fatores como: profundidade de penetração do oxigênio (O_2), temperatura da carne, pressão parcial de O_2 , pH e competição do O_2 por outros processos respiratórios (taxa de consumo do oxigênio - TCO). Já a coloração amarronzada, provocada pela formação da metamioglobina, também depende de alguns fatores como pressão parcial de O_2 , temperatura, pH, atividade da metamioglobina redutase (MRA) e, em alguns casos, do crescimento microbiano (MANCINI; HUNT, 2005).

A atividade da metamioglobina redutase (MRA) é reconhecida por prolongar a estabilidade da coloração dos músculos por reduzir a forma química de metamioglobina à mioglobina, a qual permite a subsequente ligação com o oxigênio, e conseqüentemente o retorno à coloração vermelho brilhante (McKENNA et al., 2005). É considerada como o fator mais importante na contribuição da estabilidade da cor em carnes e pode ser afetada pelo tempo, temperatura, pH e tipo de músculo. Onde, geralmente, a exposição a altas temperaturas e baixo pH leva ao aumento da formação da taxa de metamioglobina através da redução da MRA (LADIKOS; WEDZICHA, 1988).

Outro determinante importante na estabilidade da cor em carnes é a taxa de consumo de oxigênio (TCO) a qual está associada com a respiração residual da mitocôndria durante o período *post mortem*, e relaciona-se à profundidade de penetração do oxigênio através da superfície exposta do músculo (McKENNA et

al., 2005). E, comumente, a menor TCO está relacionada à maior penetração de oxigênio no músculo e com isso, à maior estabilidade da cor (KLONT; BROCKS; EIKELENBOOM, 1998).

A cor da carne é influenciada por um grande número de fatores biológicos e por fatores tecnológicos como estabilidade da cor em diferentes músculos, maturação da carne fresca e, para a carne cozida, fatores como temperaturas de cozimento e extensão da desnaturação proteica (GASPERLIN; ZLENDER; ABRAM, 2001).

Existem fatores intrínsecos de variação da cor em carnes, relacionada com o conteúdo de mioglobina contida nos músculos, como raça, espécie, idade do animal e seu estado nutricional e o período pré-abate. Entre os fatores extrínsecos, citam-se o processo de abate, o qual pode influenciar a extensão e velocidade da queda do pH e temperatura da carne, e por último, o processo de estocagem das carnes (HONIKEL, 1997).

Em relação à raça, parece ser plausível que a genética influencie as características metabólicas colaborando para a variação na estabilidade da cor em carnes. King et al. (2010) ao estudarem diferentes grupos genéticos quanto à variação no conteúdo de mioglobina levando em consideração a estabilidade da cor, concluíram que a variação da cor pode ser em certa medida influenciada pela genética.

A coloração da carne é definida como uma experiência subjetiva em que suas sensações não existem sem a percepção de um observador, o qual tem uma visão definida como tri cromática, ou seja, a visualização da cor é acompanhada por uma mistura adequada do estímulo de três cores primárias (MAcDOUGALL, 1982). Segundo o mesmo autor, através desse conceito a cor pode ser medida em quantidades físicas desde que definidos o iluminante e as cores primárias em relação à visão de um observador padrão, já estabelecidos pela Comissão Internacional de L'eclairage (CIE), e o espaço de cor a ser

utilizado. Entre os espaços de cor utilizados na área de alimentos, destaca-se o sistema CIELAB, onde a área é definida em termos de luminosidade (L^*) e pelas coordenadas a^* representando a coloração de verde para vermelho e b^* de azul para amarelo, a partir das quais o ângulo de tonalidade (h^*) e a saturação (C^*) são calculados.

2.4 O processo de maturação

O processo de maturação da carne consiste no armazenamento da carne não processada acima de seu ponto de congelamento ($-1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$), geralmente realizado sob temperatura de refrigeração que varia de 0 a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ZEOLA et al., 2007), com o objetivo de melhorar suas características sensoriais, em especial a maciez, sabor e suculência. Esse processo tem sido praticado por muitos anos e ainda continua sendo um método importante a fim de favorecer o amaciamento da carne (KOOHMARAIE; SCHOLLMEYER; DUTSON, 1986). Entretanto, autores como Boakye e Mittal (1996) demonstraram que a maturação também tem influência nos parâmetros de cor instrumental (L^* , a^* , b^*) da carne bovina.

A maturação ocorre após o processo de *rigor mortis* sob refrigeração, durante um período de 7 a 28 dias após o abate quando a carne é embalada a vácuo, a fim de eliminar o risco do crescimento de bactérias aeróbicas putrefativas, e ainda, favorecer o crescimento das bactérias lácticas produtoras de substâncias antimicrobianas (ANDRIGHETTO et al., 2006). Segundo Koohmaraie (2006), carnes bovinas devem ser armazenadas por 10 a 14 dias, cordeiros por sete a 10 dias e carne suína por cinco dias.

Trata-se de um processo complexo, afetado por muitas variáveis como idade, espécie, raça, quantidade e solubilidade do colágeno, comprimento do sarcômero das miofibrilas, velocidade de glicólise, força iônica e degradação das miofibrilas (FELÍCIO, 1993).

A maturação permite a ação prolongada das proteases presentes naturalmente na carne (KOOHMARAIE, 1988), que resultam na fragmentação das proteínas sarcoplasmáticas e proteólise dos componentes estruturais das miofibrilas. As enzimas proteolíticas atuam ocasionando algumas alterações no tecido muscular, como: degradação e/ou enfraquecimento gradual da linha Z, que conduz à degradação das miofibrilas; desaparecimento da troponina T; degradação da desmina e nebulina e da titina (proteínas estruturais do tecido muscular) (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006).

Alves et al. (2005) demonstraram que carnes de animais com 75% de sangue zebuino, submetidas a 10 dias de maturação, apresentaram força de cisalhamento semelhante ao da carne de animais Angus que não passaram pelo processo de maturação, comprovando a eficácia desse processo no que se refere à maciez da carne.

2.5 Efeito do congelamento

O congelamento é um método de conservação de alimentos utilizado há milhares de anos devido à alta qualidade do produto que se pretende congelar, o congelamento e posterior descongelamento são, no entanto, processos complexos que envolvem a transferência de calor, bem como alterações químicas e físicas que podem afetar a qualidade desse produto (GAMBUTEANU; BORDA; ALEXE, 2013). Segundo os mesmos autores alguns fatores devem ser considerados quando se discute o processo de congelamento/descongelamento da carne, como: o grau de maturação antes do congelamento, o tipo (rápido ou lento), bem como as condições de armazenamento durante esse processo.

Um efeito positivo do congelamento é a redução ou inativação de microrganismos, o que leva ao aumento da vida útil do produto (DAMEN;

STEENBEKKERS, 2007). Para Thyholt e Isaksson (1997), o congelamento afeta a qualidade da carne e tem como principal fenômeno o crescimento de cristais de gelo que provocam a remoção osmótica da água, a desnaturação das proteínas e danos mecânicos onde as células, a mitocôndria além de outras organelas são rompidas em vários graus, as enzimas são liberadas e o exsudado se altera. Os fatores que podem ser afetados pelo congelamento e subsequente descongelamento da carne são: desnaturação proteica, oxidação de lipídios e proteínas, pH, força de cisalhamento, contagem microbiana, quantidade de exsudado, a textura e estrutura da carne, e sua cor (AKHTAR; KHAN; FAIZ, 2013).

O processo de congelamento leva à formação de cristais de gelo que podem danificar a estrutura celular (STUBY; LAMKEY; DOLEZAL, 1993) e parte das células que foram rompidas durante esse processo, passam para os espaços intercelulares, formando ao descongelar exsudados denominados “purga” ou “*drip*” (ZEOLA et al., 2007). Nas fibras musculares, a concentração de sal é maior no seu interior do que no espaço intercelular, o que leva a um maior ponto de congelamento entre as fibras e, por consequência, à formação inicial da cristalização. Esse congelamento inicial, aumenta a concentração de sólidos dissolvidos na água que não congelou, aumentando a pressão osmótica. Através da concentração osmótica, a água sairá do espaço intracelular para o intercelular, rompendo os cristais de gelo formados (GRUJIC et al., 1993).

Quanto mais rápido ocorrer o congelamento, menor será a quantidade de cristais de gelo formada, resultando em menor dano celular. Añón e Calvelo (1980) demonstraram a influência da taxa de congelamento sobre a formação de cristais de gelo que provocam danos físicos nas microestruturas celulares. Para Ballin e Lametsch (2008) a consequência da formação desses cristais é que esse dano físico provocado continua durante o armazenamento no congelamento e também no descongelamento, devido ao processo de recristalização contínua.

No congelamento lento, como a temperatura da carne permanece próxima do ponto de congelação inicial durante muito tempo, dá-se a formação de grandes cristais, inicialmente na área extracelular. Estes aumentam seu tamanho devido à água das células que atravessam a membrana por um mecanismo de osmose. Ocorre ainda 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. Dessa forma, a perda de água, durante o processo de descongelamento será maior (ABERLE et al., 2001). Na taxa de congelamento rápido, inicialmente, são formados numerosos cristais de gelo menores, enquanto no congelamento lento, ocorre a desidratação parcial da fibra provocada pela migração de fluido sarcoplasmático para a área extracelular, onde se forma o gelo (GAMBUTEANU; BORDA; ALEXE, 2013). Grujic et al. (1993) relataram que ao congelar a carne em temperaturas entre $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $-33\text{ }^{\circ}\text{C}$, os cristais de gelo serão formados tanto entre as fibras como em seu interior. Farouk, Wieliczko e Merts (2003) concluíram que a temperatura de estocagem em -18 a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ é suficiente para manter a qualidade da carne.

Boles e Swan (2002), comparando as formas de estocagem de amostras de animais *B. indicus*, *B. indicus*×*B. taurus* e *B. taurus* resfriadas ou congeladas, encontraram por meio de análise sensorial diferenças significativas entre grupos genéticos e forma de estocagem das amostras, sendo que as amostras congeladas apresentaram menor força de cisalhamento. Shanks, Wulf e Maddock (2002) também observaram menores valores de força de cisalhamento em carnes que foram congeladas após a maturação.

Porém, para a perda de peso por cozimento, amostras que passaram pelo congelamento apresentaram maiores valores, observado por Shanks, Wulf e Maddock (2002), e maiores perdas de exsudado como visto no trabalho de Lagerstedt et al. (2008). Em relação à capacidade de retenção de água (CRA),

Vieira et al. (2009) observaram redução da mesma em carnes que foram congeladas por um período superior a 90 dias.

Tanto o congelamento quanto a maturação são processos que contribuem para a maciez da carne e a junção de ambos é de se esperar que tenha um efeito ainda maior sobre esse atributo de qualidade. Assim, o ato de congelar as carnes antes de maturá-las vem sendo estudado por alguns autores (FAROUK; WIELICZKO; MERTS, 2003; LAGERSTEDT et al., 2008; SHANKS; WULF; MADDOCK, 2002; WHEELER et al., 1990) como fator de favorecimento para a maciez quando medido através da força de cisalhamento.

Baixas temperaturas de armazenamento da carne, próxima ou abaixo de 0 °C, retardam a ação de enzimas endógenas e a degradação bacteriana (BOAKYE; MITTAL, 1993). Crouse e Koohmaraie (1990), Koohmaraie (1990) e Whipple e Koohmaraie (1992), relataram que o congelamento, seguido do descongelamento e maturação, poderia contribuir para uma maior atividade da calpaína e, conseqüentemente, resultando numa maior proteólise das miofibrilas em comparação às carnes que foram somente maturadas. Por outro lado, a atividade da μ -calpaína, m-calpaína e calpastatina foram avaliadas em amostras do músculo *longissimus* de suínos, congeladas a -20 ou -80 °C, por 143 dias. Os autores descreveram que a calpaína, bem como a calpastatina foram estáveis durante o congelamento (KRISTENSEN; CHRISTENSEN; ERTBJERG, 2006).

Grayson et al. (2014) observaram que, ao congelar as carne e posteriormente maturá-las, os valores de força de cisalhamento eram menores, indicando carnes mais macias. Segundo esses autores, o amaciamento foi resultante do favorecimento da proteólise e da formação de cristais de gelo na carne. Resultados semelhantes foram descritos por Carolino et al. (2008) em amostras do músculo *longissimus dorsi* de animais das raças Alentejanas e Mertolenga, submetidas à maturação por 10 dias a 2 °C, logo após a desossa ou congeladas, descongeladas e maturadas nas mesmas condições.

Jeong et al. (2011) relataram que apesar do congelamento ser um método importante para a preservação de carnes, alguns mecanismos não podem ser evitados durante esse processo devido, principalmente, à formação de cristais de gelo que leva ao dano mecânico da carne e desnaturação proteica, sugerindo que esse processo pode levar a uma maior deterioração da coloração em carnes bovinas. Esses autores observaram maiores valores para os índices de vermelho (a^*) e de amarelo (b^*) e para a oximioglobina nas carnes maturadas por 7 dias em comparação com aquelas que foram congeladas e descongeladas antes da maturação. A metamioglobina foi maior nas carnes que foram congeladas, sugerindo que o processo de congelamento da carne pode acelerar a deterioração de sua coloração. Além disso, durante o congelamento/descongelamento ocorre a desnaturação da mioglobina, o que leva a uma perda na estabilidade da cor (AÑÓN; CALVELO, 1980).

Segundo Grayson et al. (2014), apesar do congelamento antes da maturação poder ser considerado um processo que favoreça a maciez da carne, essa não é uma tecnologia provável a ser adotada em toda a indústria, mas pode haver nichos em que as vantagens superem as desvantagens e que o benefício em se gastar um pouco mais dê resultados significativos.

REFERÊNCIAS

- AASLYNG, M. D. et al. Cooking loss and juiciness of pork in relation to raw meat quality and cooking procedure. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 14, p. 277–288, 2003.
- ABERLE, E. D. et al. **Principles of meat science**. 4th ed. Iowa: Kendall/ Hunt, 2001. 354 p.
- AKHTAR, S.; KHAN, M. I.; FAIZ, F. Effect of thawing on frozen meat quality: a comprehensive review. **Pakistan Journal of Food Sciences**, Faisalabad, v. 23, n. 4, p. 198-211, 2013.
- ALARCON-ROJO, A. D.; DRANSFIELD, E. Alteration of post-mortem ageing in beef by the addition of enzyme inhibitors and activators. **Meat Science**, Barking, v. 41, n. 2, p. 163-178, 1995.
- ALVES, D. D. et al. Maciez da carne bovina. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 6, n. 3, p. 135-149, jul./set. 2005.
- ANDRIGHETTO, C. et al. Maturação da carne bovina. **Revista Electrónica de Veterinaria**, Málaga, v. 7, n. 6, p. 1-6, 2006.
- AÑÓN, M. C.; CALVELO, A. Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. **Meat Science**, Barking, v. 4, p. 1–14, 1980.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORES DE CARNE. **Rebanho bovino brasileiro**. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br>>. Acesso em: 29 jan. 2014.
- BALLIN, N. Z.; LAMETSCH, R. Analytical methods for authentication of fresh vs. thawed meat – A review. **Meat Science**, Barking, v. 80, p. 151–158, 2008.
- BERTRAM, H. C.; AASLYNG, M. D.; ANDERSEN, H. J. Elucidation of the relationship between cooking temperature, water distribution and sensory attributes of pork – a combined NMR and sensory study. **Meat Science**, Barking, v. 70, p. 75–81, 2005.
- BOAKYE, K.; MITTAL, G. S. Changes in colour of beef *M. longissimus dorsi* muscle during ageing. **Meat Science**, Barking, v. 42, n. 3, p. 347-354, 1996.

BOAKYE, K.; MITTAL, G. S. Changes in pH and water holder properties of *Longissimusdorsimus* muscle during beef ageing. **Meat Science**, Barking, v. 34, p. 335-349, 1993.

BOEHM, M. L. et al. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 2415-2434, 1998.

BOLES, J. A.; SWAN, J. E. Processing and sensory characteristics of cooked roast beef: effect of breed, age, gender and storage conditions. **Meat Science**, Barking, v. 62, p. 419-427, 2002.

BOUTON, P. E. et al. Influence of animal age on the tenderness of beef: muscle differences. **Meat Science**, Barking, v. 2, n. 4, p. 301-311, Oct. 1978.

CALKINS, C. R.; SEDEIMAN, S. C. Relationships among calcium dependent protease, cathepsins b and h, meat tenderness and the response of muscle to aging. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, p. 1186-1193, 1988.

CAROLINO, M. I. et al. Efeito da congelação nos valores de pH, cor e força de cisalhamento na carne de bovinos das raças Alentejanas e Mertolenga. In: CONGRESSO IBÉRICO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS ANIMAIS, 6., 2008, Lisboa. **Resumos...** Lisboa: [s. n.], 2008. p. 118.

CHAMBAZ, A. et al. Meat quality of Angus, Simmental, Charolais and Limousin steers compared at the same intramuscular fat content. **Meat Science**, Barking, v. 63, p. 491-500, 2003.

CROUSE, J. D.; CUNDIFF, L. V.; KOCH, R. M. Comparisons of *BosIndicus* and *Bos Taurus* inheritance for carcass beef characteristics and meat palatability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, n. 10, p. 2661-2668, 1989.

CROUSE, J. D.; KOOHMARAIE, M. Effect of freezing of beef on subsequent postmortem aging and shear force. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, 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**, Bradford, v. 109, n. 7, p. 511-518, 2007.

DESTEFANIS, G. et al. Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner–Bratzler shear force. **Meat Science**, Barking, v. 78, p. 153–156, 2008.

DRANSFIELD, E. Modelling post-mortem tenderisation - V: inactivation of calpains. **Meat Science**, Barking, v. 37, p. 391–409, 1994.

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**, Barking, v. 66, p. 171–179, 2003.

FELÍCIO, P. E. Fatores ante e post mortem que influenciam na qualidade da carne vermelha. SIMPÓSIOS DA REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30., 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBZ, 1993. p. 43-52.

GAMBUTEANU, C.; BORDA, D.; ALEXE, P. The effect of freezing and thawing on technological properties of meat: review. **Journal of Agroalimentary Processes and Technologies**, Timisoara, v. 19, n. 1, p. 88-93, 2013.

GASPERLIN, L.; ZLENDER, B.; ABRAM, V. Colour of beef heated to diferente temperatures as related to meat ageing. **Meat Science**, Barking, v. 59, p. 23-30, 2001.

GOLL, D. E. et al. Role of the calpain system in muscle growth. **Biochimie**, Paris, v. 74, p. 225-237, 1992.

GRAYSON, A. L. et al. The effects of freezing and thawing or freezing, thawing, and aging effects on beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 92, n. 6, p. 2735-2740, June 2014.

GRUJIC, R. et al. Definition of the optimum freezing rate. Investigation of structure and ultrastructure of beef *M. longissimusdorsi* frozen at different freezing rates. **Meat Science**, Barking, v. 33, n. 3, p. 301–318, 1993.

HADLICH, J. C. et al. Efeito do colágeno na maciez da carne da carne de bovinos de distintos grupos genéticos. **Acta Scientiarum Animal Science**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 57-62, jan./mar. 2006.

HEINEMANN, R. J. B. et al. Método simples para estimar encurtamento pelo frio em carne bovina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 335-339, 2002.

HEINEMANN, R. J. B.; PINTO, M. F.; ROMANELLI, P. F. Fatores que influenciam a textura da carne de novilhos Nelore e cruzados Limousin – Nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 8, p. 963-971, ago. 2003.

HONIKEL, K. O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**, Barking, v. 49, n. 4, p. 447-457, 1998.

HONIKEL, K. O. Reference methods supported by OECD and their use in Mediterranean meat products. **Food Chemistry**, London, v. 59, n. 4, p. 573-582, 1997.

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

JEONG, J. Y. et al. Effect of freeze–thaw cycles on physicochemical properties and color stability of beef *semimembranosus* muscle. **Food Research International**, Barking, v. 44, p. 3222–3228, 2011.

KIM, Y. H.; LUC, G.; RONSEVOLD, K. Pre rigor processing, ageing and freezing on tenderness and colour stability of lamb loins. **Meat Science**, Barking, v. 95, p. 412–418, 2013.

KING, D. A. et al. Contribution of genetic influences to animal-to-animal variation in myoglobin content and beef lean color stability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, p. 1160-1167, 2010.

KLONT, R. E.; BROCKS, L.; EIKELENBOOM, G. Muscle fibre type and meat quality. **Meat Science**, Barking, v. 49, n. 1, p. 219-229, 1998.

KOLCZAK, T. et al. Changes of myofibrillar and centrifugal drip proteins and shear force of psoas major and minor and semitendinosus muscles from calves, heifers and cows during post-mortem ageing. **Meat Science**, Barking, v. 64, n. 1, p. 69-75, May 2003.

KOOHMARAIE, M. Biochemical factors regulating the toughening tenderization processes of meat. **Meat Science**, Barking, v. 43, p. 193-201, 1996.

KOOHMARAIE, M. et al. Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? **Meat Science**, Barking, v. 62, p. 345–352, 2002.

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**, Barking, v. 74, n. 1, p. 34-43, Sept. 2006.

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

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

KOOHMARAIE, M.; SCHOLLMAYER, J. E.; DUTSON, T. R. Effect of low-calcium-requiring calcium activated factor on myofibrils under varying pH and temperature conditions. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 51, n. 1, p. 28-32, 1986.

KOOHMARAIE, M. The role of endogenous proteases in meat tenderness. Reciprocal **Meat** Conference Proceedings, v. 41, p. 89-100, 1988.

KRISTENSEN, L.; CHRISTENSEN, M.; ERTBJERG, P. Activities of calpastatin, μ -calpain and m-calpain are stable during frozen storage of meat. **Meat Science**, Barking, v. 72, p. 116-120, 2006.

LADIKOS, D.; WEDZICHA, B. L. The chemistry and stability of the haem-protein complex in relation to meat. **Food Chemistry**, London, v. 29, p. 143-155, 1988.

LAGERSTEDT, A. et al. Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef M. longissimus dorsi. **Meat Science**, Barking, v. 80, p. 457-461, 2008.

MACDOUGALL, D. B. Changes in the colour and opacity of meat. **Food Chemistry**, London, v. 9, p. 75-88, 1982.

MANCINI, R. A.; HUNT, M. C. Current research in meat color. **Meat Science**, Barking, v. 71, p. 100-121, 2005.

MARSHALL, D. M. Breed differences and genetic parameters for body composition traits in beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 2745-2755, 1994.

MCKENNA, D. R. et al. Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. **Meat Science**, Barking, v. 70, p. 665–682, 2005.

NOWAK, D. Enzymes in tenderization of meat – the system of calpains and other systems: a review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, Olsztyn, v. 61, n. 4, p. 231-237, 2011.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. Viçosa, MG: UFV, 2007. 599 p.

RESTLE, J.; VAZ, F. N.; QUADROS, A. R. B. Características de carcaça e da carne de novilhos de diferentes genótipos de Hereford x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 28, p. 1245-1251, 1999.

SCOLLAN, N. et al. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Science**, Barking, v. 74, p. 17–33, 2006.

SHACKELFORD, S. D. et al. An evaluation of tenderness of the *longissimus* muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 171-177, 1991.

SHACKELFORD, S. D. et al. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine postrigorcalpastatin activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 857- 863, 1994.

SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M. Evaluation of slice shear force as an objective method of assessing beef longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, p. 2693-2699, 1999.

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**, Champaign, v. 80, p. 2122-2125, 2002.

STUBY, M. A.; LAMKEY, J. W.; DOLEZAL, H. G. The effect of freezing on aging of beef. **Animal Science Research Report**, Stillwater, p. 55- 58, 1993. Disponível em: <http://beefextension.com/research_reports/1993rr/93_10.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2014.

TATUM, J. D.; SMITH, G. C.; CARPENTER, Z. L. Interrelationships between marbling, subcutaneous fat thickness and cooked beef palatability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 54, p. 777-784, 1982.

TAYLOR, R. G. et al. Is Z-disk degradation responsible for post-mortem tenderization? **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 21, p. 1351-1367, 1995.

THYHOLT, K.; ISAKSSON, T. Differentiation of frozen and unfrozen beef using near-infrared spectroscopy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 73, p. 525-532, 1997.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline>>. Acesso em: 21 abr. 2014.

VAZ, F. N. et al. Qualidade e composição química da carne de bovinos de corte inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos Charolês x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 30, n. 2, p. 518-525, 2001.

VIEIRA, C. et al. 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**, Barking, v. 83, n. 3, p. 398-404, 2009.

WANG, Y. H. et al. Gene expression patterns during intramuscular fat development in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 119-130, 2009.

WATANABE, A.; DALY, C. C.; DEVINE, C. E. The effects of the ultimate pH of meat on tenderness changes during ageing. **Meat Science**, Barking, v. 42, n. 1, p. 67-78, 1996.

WHEELER, T. L. et al. Mechanisms associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 4206-4220, 1990.

WHIPPLE, G. et al. Evaluation of attributes that affect *longissimus* muscle tenderness in *Bostaurus* and *Bosindicus* cattle **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 2716-2728, 1990.

WHIPPLE, G.; KOOHMARAIE, M. Freezing and calcium chloride marination effects on beef tenderness and calpastatin activity. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 3081-3085, 1992.

ZEOLA, N. M. B. L. et al. Parâmetros qualitativos da carne ovina: um enfoque à maturação e marinação. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 102, p. 215-224, 2007.

**Artigo 1 - EFEITOS DO CONGELAMENTO PRÉVIO À MATURAÇÃO
NA MACIEZ DA CARNE DE ANIMAIS *Bos indicus* E *Bos taurus***

ARTIGO 1

Artigo redigido conforme a norma da revista *Meat Science*
“Versão Preliminar”

**EFEITOS DO CONGELAMENTO PRÉVIO À MATURAÇÃO NA
MACIEZ DA CARNE DE ANIMAIS *Bos Indicus* E *Bos Taurus***

*Effects of frozen-thawed aging on tenderness of beef from Bos indicus
and Bos taurus cattle*

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do congelamento prévio à maturação sobre a maciez da carne de bovinos das raças Nelore e Aberdeen Angus. Contrafilés (*M. longissimus thoracis*) de animais das raças Nelore e Angus, foram submetidos a dois tratamentos: maturação convencional; e congelamento (-20 °C por 40 dias) seguido do descongelamento e períodos de maturação. As carnes foram avaliadas após 0, 7, 14 e 21 dias de maturação (1 °C). O congelamento aumentou ($P < 0,05$) a purga, a perda por cozimento e as perdas de exsudado totais durante toda a maturação. Carnes de animais da raça Nelore apresentaram maiores ($P < 0,05$) perdas de exsudado e menores comprimentos de sarcômero. O congelamento favoreceu a proteólise durante a maturação nas carnes de ambas as raças, mas a redução na força de cisalhamento foi observada ($P < 0,05$) apenas nas carnes de Aberdeen Angus e apenas no tempo zero. Estes resultados sugerem 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.

Palavras-chave: Angus, Nelore, proteólise, força de cisalhamento.

1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura é um dos setores mais importantes do agronegócio brasileiro e apresenta destaque no cenário mundial. O Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, sendo o maior exportador de carne bovina e o segundo maior produtor de carne (USDA, 2014). Estima-se que 80% do rebanho brasileiro são compostos por animais de raças zebuínas (*Bos indicus*), que são animais de comprovada rusticidade e adaptação ao ambiente tropical do Brasil, destacando-se o Nelore com 90% desta parcela (ABIEC, 2014). No entanto, a cadeia produtiva da pecuária brasileira vivencia aumento na introdução de raças taurinas (*Bos taurus*), como o Aberdeen Angus, principalmente na região Sul do Brasil, onde baixas temperaturas e pastagens com maior valor nutritivo permitem a adaptação destes animais.

Entre os grupos genéticos, a carne de animais *Bos taurus* geralmente apresenta maior maciez que a carne de animais *Bos indicus* (Bressan, Rodrigues, Rossato, Ramos, & Gama, 2011; Johnson, Huffman, Williams, & Hargrove, 1990; Shackelford, Koohmaraie, Miller, Crouse, & Reagan, 1991; Wheeler, Savell, Cross, Lunt, & Smith, 1990; Whipple et al., 1990), o que pode se traduzir em menor aceitação da carne de zebuínos pelos consumidores. A menor maciez em carnes de animais *Bos indicus* é, principalmente, atribuída à maior quantidade de calpastatina presente no músculo destes animais, que inibe a ação das calpaínas, principais proteases envolvidas no processo de maturação (Ferguson, Jiang, Hearnshaw, Rymill, & Thompson, 2000; Koohmaraie, 1994; Koohmaraie & Geesink, 2006; Shackelford et al., 1991; Whipple et al., 1990).

Por outro lado, existem indicações de que o processo de congelamento da carne realizado antes da maturação pode ser uma alternativa para se reduzir a

ação da calpastatina, minimizando, portanto, os seus efeitos e favorecendo a maciez da carne. Koohmaraie (1990) e Whipple e Koohmaraie (1992) observaram maior susceptibilidade 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.

É descrito na literatura que a maciez da carne aumenta com o congelamento/descongelamento quando medida pela força de cisalhamento (Lagerstedt, Enfält, Johansson, & Lundström, 2008; Shanks, Wulf, & Maddock, 2002; Vieira, Diaz, Martínez, & García-Cachán, 2009), embora alguns autores (Eastridge & Bowker, 2011; Hergenreder et al., 2013; Wheeler, Miller, Savell, & Cross, 1990) não tenham observado diferenças na maciez entre carnes frescas e descongeladas. Na maioria destes estudos, no entanto, os efeitos do congelamento foram avaliados após a maturação da carne. Quando a maturação é conduzida após o congelamento/descongelamento da carne, alguns estudos (Carolino et al., 2009; Cohen, 1984; Crouse & Koohmaraie, 1990; Grayson, King, Shackelford, Koohmaraie, & Wheeler, 2014) reportaram um efeito positivo na maciez final da carne bovina.

Embora o congelamento prévio à maturação possa ser uma estratégia para melhoria dos problemas de maciez relatados para as carnes bovinas de animais zebuínos, não foi encontrado nenhum relato científico destes efeitos na carne de animais *Bos indicus*. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da maturação da carne após o armazenamento congelado sobre a maciez do músculo *Longissimus thoracis* bovinos de animais das raças Aberdeen Angus e Nelore.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram submetidos à apreciação e aprovados pela Comissão de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade Federal de Lavras (UFLA) antes do início do experimento. Os animais foram criados nas dependências do Departamento de Zootecnia da UFLA e o experimento conduzido no Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes) do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA.

2.1 Animais e preparo das amostras

Foram utilizados 34 bovinos machos inteiros, sendo 17 da raça Nelore (*Bos indicus*) e 17 da raça Aberdeen Angus (*Bos taurus*), terminados em confinamento (dieta composta de silagem de milho e concentrado: grão moído de milho, farelo de soja e mistura mineral) por 84 dias e abatidos com idade média de 20 meses e peso médio de 492 ± 61 kg.

Os animais foram abatidos por concussão cerebral e sangrados por venissecção da jugular e carótida, seguindo práticas de bem estar e abate regulamentadas pela legislação brasileira. As carcaças foram penduradas pelo obturador foramen no osso pélvico e mantidas em câmara fria (4 °C) por 24 horas. Após refrigeração o contrafilé (*M. Longissimus thoracis*) direito foi removido, a partir da 6ª vértebra torácica, sendo obtidos 12 bifês de 2,5 cm de espessura que foram sequencialmente enumerados e destinados aos tratamentos da seguinte forma (Figura 1): o primeiro bife e a metade do segundo (uma unidade experimental) foram destinados ao tratamento de maturação convencional (controle); a outra metade do segundo e o terceiro bife foram destinados ao tratamento por congelamento prévio à maturação (congelado); este

processo foi repetido até se obter 4 unidades experimentais para cada tratamento, as quais foram distribuídas aleatoriamente nos tempos de maturação.

Cada unidade experimental foi pesada, identificada e acondicionada a vácuo (embaladora modelo BS420, R. Baião, Brasil) em embalagens de náilon-polietileno. As amostras destinadas à maturação convencional (controle) foram armazenadas sob refrigeração ($1 \pm 0,5$ °C), em câmara climática (modelo EL202, EletroLab, Brasil), nos tempos 0 (24 horas *post mortem*), 7, 14 e 21 dias. As amostras destinadas ao congelamento prévio foram congeladas e armazenadas em freezer convencional (-20 °C) por um período de 40 dias, sendo em seguida descongeladas (a 4 °C) por 24 horas e maturadas nos mesmos períodos empregados para o tratamento controle.

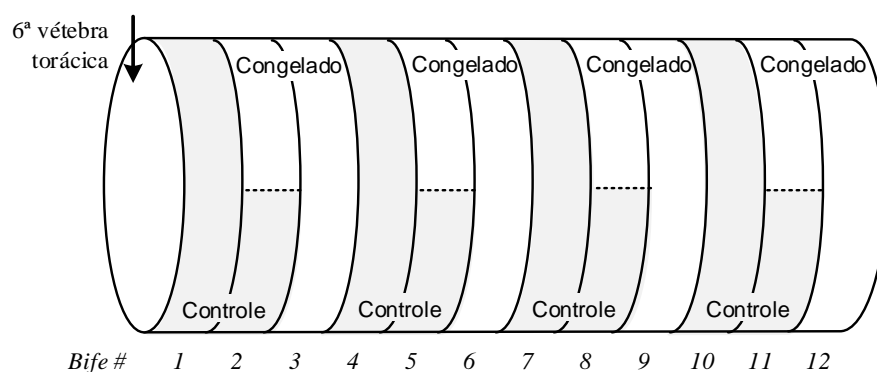


Figura 1 Descrição anatômica da divisão dos bifes de *L. thoracis* nos dois tratamentos:

Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C.

2.2 pH e perdas de exsudados

As amostras maturadas (unidades experimentais) foram removidas da embalagem, secas em papel toalha e novamente pesadas para a determinação da purga (perda de exsudado da carne), obtida pela diferença com os pesos das

amostras antes da embalagem, sendo expressa em porcentagem. O bife inteiro de cada tratamento foi utilizado para realização das análises de perda de peso por cozimento (PPC) e força de cisalhamento (WBsSF). As metades dos bifes foram utilizados na condução das análises de pH e capacidade de retenção de água (CRA) e amostras foram retiradas e congeladas para posterior análise do índice de fragmentação (IF) e comprimento de sarcômero.

O pH foi medido, utilizando um pHmetro portátil (modelo HI 99163; Hanna Instruments, Woonsocket, RI, EUA) com eletrodo de inserção, e amostras removidas para determinação da capacidade de retenção de água (CRA), ambas conduzidas em triplicata.

A análise de CRA foi conduzida pelo método de pressão em papel de filtro proposto por Honikel e Hamm (1994), com pequenas modificações. Amostras de, aproximadamente, 300 mg foram colocadas sobre uma folha de papel filtro previamente seco e o conjunto prensado com um peso de 5 kg por 5 minutos. Após a prensagem, as áreas delimitadas pela carne prensada (A_c) e pelo líquido exsudado (A_e) no papel filtro foram obtidas, utilizando o software ImageJ® 1.42q (NationalInstituteof Health, USA), e a CRA expressa como a razão A_c/A_e .

Para determinação da perda por cozimento (PPC), as amostras foram pesadas e grelhadas a 160-180 °C (Mega Grill; Britânia, Curitiba, PR, Brasil) até atingirem a temperatura interna de 71 °C (AMSA, 1995), monitorada por um termômetro digital (TD-880 com termopar tipo K; ICEL, Manaus, AM, Brasil) inserido no centro geométrico de cada bife. Após o cozimento as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente por 2 h e novamente pesadas. A PPC foi determinada pela diferença da pesagem do bife antes e após o cozimento e o resultado foi expresso em porcentagem.

A perda de exsudado total também foi avaliada, sendo determinada como a soma entre a purga e a PPC.

2.3 Índice de fragmentação

O índice de fragmentação (IF) foi determinado pelo protocolo descrito por Davis, Dutson, Smith, and Carpenter (1980), com pequenas modificações. Cinco gramas da amostra ainda congelada foram homogeneizadas (Turratec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil) em 50 mL de solução refrigerada (4 °C) de sacarose 0,25 M e KCl 2 mM, a uma velocidade de 15.000 rpm, por cerca de 40 segundos. O homogenato foi filtrado à vácuo (bomba de vácuo NOF-650; New Pump, Brasil) por uma tela de náilon com poros de 250 µm previamente seca e pesada. A tela contendo o resíduo foi transferida para uma folha de papel filtro, previamente seca e pesada, e o conjunto pesado após ser mantido por 10 minutos à temperatura ambiente. O peso do resíduo (Pr) foi determinado por diferença e o IF expresso como $100 \times Pr$. Menores valores de IF indicam maior proteólise da estrutura miofibrilar.

2.4 Força de cisalhamento

A força de cisalhamento foi determinada segundo método *Warner-Bratzler Square Shear Force* (WBS_{SF}), descrito por Silva et al. (2014), após avaliação da PPC. De cada bife cozido foram retiradas de seis a oito 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 (kgf) necessária para cisalhar por completo cada amostra foi mensurada e a média das leituras de cada bife utilizada na análise estatística.

2.5 Comprimento do sarcômero

A análise do comprimento do sarcômero foi conduzida nas amostras cruas, fixadas segundo metodologia descrita por Koolmees, Korteknie, e Smulders (1986), com pequenas modificações. Pequenos filetes do músculo (2,5 x 1,0 x 1,0 cm) com as fibras dispostas longitudinalmente foram acondicionados em tubos tipo *ependorf* contendo solução refrigerada (4 °C) de sacarose 0,2 M em tampão NaHPO₄ 0,1 M (pH 7,2) e congelados (-20 °C) logo após o período de maturação. Após descongelamento dos tubos à temperatura ambiente, 18 lâminas por amostra foram preparadas retirando-se feixes de fibras musculares de cada filete e o comprimento médio dos sarcômeros foi determinado por difração a laser Hélio-Néon (modelo 05-LHR-073, Melles Griot, Carlsbad, USA) conforme descrito por Cross, West, and Dutson (1981).

2.6 Análise estatística

Os tratamentos foram dispostos em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcelas subdivididas, com fatorial 2 (Aberdeen Angus x Nelore) x 2 (Controle x Congelado) na parcela. Quando pertinente, os coeficientes de correlação e o teste de média de Tukey foram avaliados. Todas as análises foram conduzidas no programa SAS® System for Windows™, versão 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, SC), considerando um nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado efeito triplo (raça x congelamento x tempo de maturação) significativo ($P < 0,05$) apenas para os valores de força de cisalhamento (WBsSF). Na Tabela 1 estão sumarizados os resultados obtidos, sendo que o tempo de maturação e o tratamento (congelamento x controle) foram os fatores que mais afetaram as características analisadas.

Tabela 1 Efeito da raça (R) e do tipo (M) e tempo (T) de maturação nas características de qualidade de músculos *L. thoracis* bovinos

		pH	Purga(%)	CRA	PPC(%)
Raça (R)	Nelore	5,51±0,14 ^a	5,94±4,76	0,245±0,050 ^a	26,48±5,40
	Angus	5,58±0,11 ^b	4,26±3,23	0,261±0,055 ^b	26,19±4,96
Tipo de maturação (M)	Controle	5,61±0,10	2,08±1,29	0,250±0,041	27,02±5,51
	Congelado	5,48±0,12	8,12±3,80	0,257±0,063	25,65±4,74
Tempo de maturação, dias (T)	0	5,61±0,12	2,95±2,80	0,248±0,045 ^a	23,59±6,05
	7	5,54±0,13	4,87±3,91	0,241±0,035 ^a	26,85±3,60
	14	5,50±0,13	6,19±4,21	0,251±0,049 ^{ab}	27,40±4,79
	21	5,52±0,13	6,40±4,58	0,273±0,072 ^b	27,49±5,05
Pr> F ¹	R	<0,0001	0,0004	0,0209	0,6478
	M	<0,0001	<0,0001	0,2698	0,0339
	RxM	0,0693	0,0135	0,9370	0,5214
	T	<0,0001	<0,0001	0,0026	<0,0001
	TxR	0,1553	0,4671	0,5113	0,3992
	TxM	0,0259	<0,0001	0,6432	<0,0001
	TxRxM	0,5474	0,8606	0,7070	0,4669

CRA = capacidade de retenção de água; PPC =perda por cozimento;

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

a-b Médias seguidas de letras diferentes na coluna, para cada efeito avaliado, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 1, conclusão

		PET(%)	WBsSF(kgf)	IF	Sarcômero (µm)
Raça (R)	Nelore	32,41±7,47 ^a	6,42±1,79	411±164	1,97±0,31 ^a
	Angus	30,45±5,77 ^b	4,99±1,15	300±186	2,27±0,34 ^b
Tipo de maturação (M)	Controle	29,09±6,35	5,74±1,56	413±177	2,18±0,34
	Congelado	33,77±6,31	5,67±1,76	297±172	2,06±0,37
Tempo de maturação, dias (T)	0	26,53±7,64	6,83±1,81	518±133	2,18±0,36 ^a
	7	31,72±5,37	5,71±1,43	352±184	2,13±0,37 ^{ab}
	14	33,59±5,41	5,40±1,56	301±156	2,12±0,37 ^{ab}
	21	33,88±5,63	4,88±1,17	250±138	2,06±0,32 ^b
Pr> F ¹	R	0,0331	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	M	<0,0001	0,7806	<0,0001	0,0739
	RxM	0,0921	0,7455	0,6326	0,5802
	T	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0278
	TxR	0,3472	0,0209	0,0199	0,5745
	TxM	<0,0001	<0,0001	0,0264	0,2794
	TxRxM	0,3572	0,0049	0,9047	0,5402

PET = perda de exsudado total; WBsSF = Warner-bratzlersquareshear force; IF = índice de fragmentação.

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

a-b Médias seguidas de letras diferentes na coluna, para cada efeito avaliado, diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

3.1 pH e perdas de exsudado

Foi observado um efeito significativo (P < 0,05) da interação congelamento x tempo de maturação para os valores de pH. Enquanto no tratamento controle (não congelado) não houve alteração (P > 0,05) dos valores de pH com o período de maturação, nas amostras descongeladas o pH foi menor (P < 0,05), tendo apresentado uma pequena queda nos primeiros sete dias de

maturação (Figura 2). Segundo Ruiz de Huidobro, Miguel, Onega, e Blázquez (2003), o pH decresce nas 24 horas *post mortem* mas torna-se estável durante a maturação. Uma pequena redução nos valores de pH com o congelamento e descongelamento da carne pode ocorrer devido a um desequilíbrio iônico causado pela desnaturação de proteínas tamponantes com o congelamento (Leygonie, Britz, & Hoffman, 2012), agravado por um aumento na concentração de solutos oriundo da maior perda de exsudado (purga). Entretanto, Carolino et al. (2009) não observaram diferenças entre os valores de pH de carnes congeladas e maturadas por 10 dias das somente maturadas durante o mesmo período.

Também houve efeito significativo ($P < 0,05$) da raça, sendo o pH da carne de animais da raça Angus ligeiramente maior ($5,58 \pm 0,11$) do que a de animais Nelore ($5,51 \pm 0,14$). Isto condiz com as observações de Silveira, Fischer, e Soares (2006) de que, nas mesmas condições de manejo pré-abate, animais oriundos de cruzamentos *Bos taurus* x *Bos indicus* apresentam uma maior taxa glicolítica no período inicial *post mortem* em comparação a bovinos *Bos taurus*, apresentando carnes com menores valores de pH final. Segundo estes autores, a maior taxa glicolítica pode estar relacionada com o temperamento mais reativo do gado zebuino quando comparado ao gado taurino.

Para a purga, foi observado efeito significativo ($P < 0,05$) das interações congelamento x tempo de maturação e raça x congelamento. A presença de purga é inevitável em qualquer sistema de embalagem em que a vida útil da carne é prolongada, especialmente nos sistemas a vácuo (Troy & Kerry, 2010). A presença de exsudado visível na embalagem não é atrativo para o consumidor e afeta características de importância econômica para a indústria, como a perda de rendimento de carne fresca e a redução da palatabilidade para o consumidor, além de poder servir como substrato para o crescimento microbiano (Lagerstedt, Lundström, & Lindahl, 2011; Troy & Kerry, 2010).

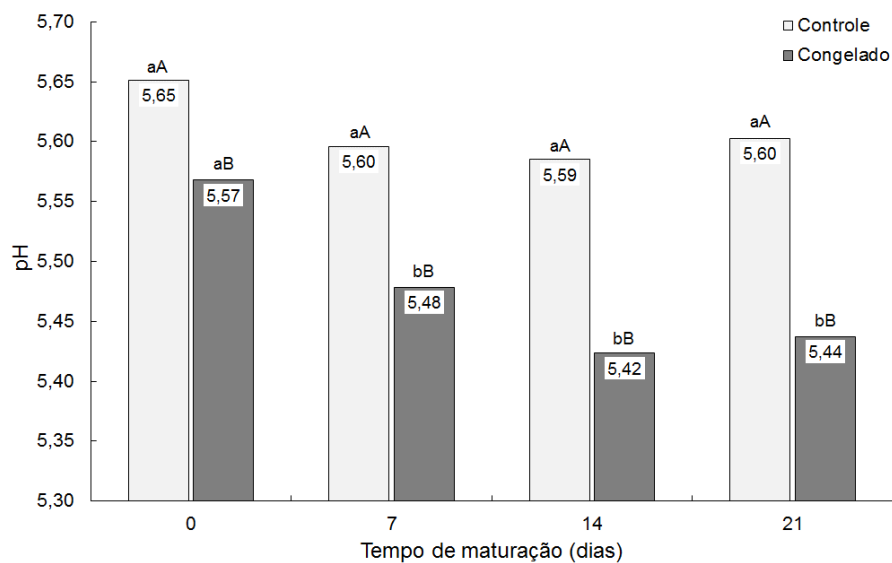


Figura 2 Valores médios de pH de músculos *L. thoracis* durante a maturação em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (ab) para o tempo de maturação e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

De forma geral, o congelamento induziu a uma maior perda de exsudado (Figuras 3), o que condiz com os dados reportados por Lagerstedt et al. (2008), Stuby, Lamkey, e Dolezal (1993) e Hergenreder et al. (2013). O congelamento e posterior descongelamento tem um forte impacto na quantidade de água perdida pela carne, devido à formação de cristais de gelo que danifica a integridade estrutural da membrana celular, permitindo a saída de água do meio intracelular para o espaço extracelular (Leygonie et al., 2012). As perdas de exsudado são bem maiores quando a carne é congelada e descongelada lentamente, conforme executado neste experimento, devido à formação de maiores cristais de gelo

(Farouk, Wieliczko, & Merts, 2004; Grujić, Petrović, Pikula, & Amidžić, 1993; Jeong, Kim, Yang, & Joo, 2011; Petrović, Grujić, & Petrović, 1993).

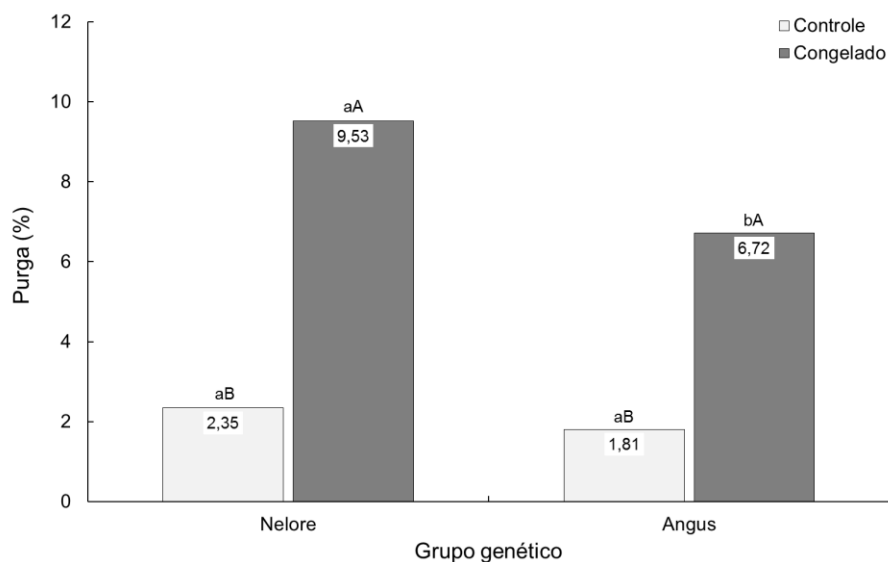


Figura 3 Valores médios da purga de músculos *L. thoracis* de animais da raça Angus e Nelore em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4°C/24h) e maturadas a 1°C. Letras iguais, minúsculas (ab) para a raça e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

O congelamento da carne, e seu armazenamento congelado, também provoca uma concentração de soluto, tanto intracelular quanto extracelular (Fennema, 1996; Lawrie, 2006), o que induz a uma desnaturação proteica, resultante do aumento da força iônica intracelular. Através da eletroforese em gel, Añón e Calvelo (1980) identificaram mioglobina no exsudado liberado da carne após o congelamento e subsequente descongelamento. Wagner e Añón (1985) relatam que, além da mioglobina, as proteínas miofibrilares são as mais afetadas pelo congelamento, sendo que uma maior desnaturação ocorre quando

do congelamento e, ou, descongelamento lento da carne. A perda estrutural da carne, devido à formação de cristais de gelo, e a desnaturação proteica, devido ao congelamento, contribuem para a perda da habilidade da carne em reter água (Farouk et al., 2004; Leygonie et al., 2012). No entanto, não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) do congelamento na capacidade de retenção de água (CRA) da carne medida pelo método de pressão em papel filtro (Tabela 1). Vieira et al. (2009) observaram que a CRA da carne reduz com o armazenamento congelado com mais de 90 dias, devido a um aumento na desnaturação proteica. Desta forma, a ausência de efeito do congelamento sobre a CRA pode ser devido ao baixo tempo (40 dias) de armazenamento congelado a que as amostras foram submetidas.

Por outro lado, os menores valores de pH das amostras descongeladas também podem ter contribuído para os maiores valores de purga, devido à proximidade com o ponto isoelétrico (PI) das proteínas da carne, especialmente da miosina (PI ~5,3), o que também está relacionado com a CRA (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005; Offer & Knight, 1988). Com o pH próximo ao PI, as proteínas do músculo encolhem, reduzindo os espaços interfilamentais e deslocando a água para o sarcoplasma e, subsequentemente, para o meio extracelular (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005). Zhang, Farouk, Young, Wieliczko, and Podmore (2005) observaram que carnes com elevado pH quando congeladas apresentaram propriedades funcionais superiores, como alta CRA, quando comparada com o congelamento de carnes com pH normal. Isto condiz com a observação de uma correlação negativa ($r = -0,66$; $P < 0,0001$) entre a purga e os valores de pH. Assim, os menores valores de pH das carnes de animais da raça Nelore podem explicar os menores ($P < 0,05$) valores de CRA (Tabela 1) e os maiores valores de purga observado nestas carnes, embora nas amostras controle a purga não tenha sido afetada pela raça (Figura 3).

Além da raça, a CRA também foi afetada significativamente ($P < 0,05$) pelo tempo de maturação, apresentando maiores valores a partir do 14º dia de armazenamento. Boakye e Mittal (1993) observaram um aumento na CRA da carne bovina, também medida pelo método de pressão em papel filtro, até o 12º dia de maturação a 2 °C. A melhoria da CRA durante a maturação, tem sido atribuída à degradação de proteínas citoesqueléticas (desmina, vinculina, sinemina e talina) que promovem ligações costaméricas entre miofibrilas e entre estas e o sarcolema (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005; Pearce, Rosenvold, Andersen, & Hopkins, 2011). A degradação destas ligações leva a uma menor redução do diâmetro da fibra *post mortem*, permitindo uma maior disponibilidade de espaço para acomodação das moléculas de água intracelular, diminuindo a sua exsudação do músculo (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005; Kristensen & Purslow, 2001).

Entretanto, embora se tenha observado uma maior CRA com o tempo de maturação, a quantidade de água exsudada (purga) pela carne aumentou ($P < 0,05$) com o período de maturação, tanto nas carnes controle quanto nas carnes submetidas ao congelamento (Figura 4). Jayasooriya, Torley, D'Arcy, e Bhandari (2007) também observaram um aumento progressivo da purga com o tempo de maturação em amostras (contrafilés bovinos) não submetidas ao tratamento por ultrassom. Jeong et al. (2011) também relataram maiores perdas de exsudado de *M. semimembranosos* após um período de maturação de 7 dias, tanto para as amostras frescas (não congeladas), quanto para as amostras submetidas ao congelamento prévio.

O aumento na purga durante a maturação é atribuído à liberação progressiva e drenagem da água intracelular para o espaço extracelular, que pode ser induzida pelo encolhimento da estrutura miofibrilar (Offer & Knight, 1988). Assim, o grau de degradação das proteínas citoesqueléticas, especialmente da proteína desmina, tem papel importante na CRA da carne (Pearce et al., 2011),

sendo sua integridade negativamente correlacionada com a perda de água (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005). Uma vez que é necessário a integridade das proteínas citoesqueléticas para transmitir o encolhimento das miofibrilas para a célula como um todo (Offer & Knight, 1988), uma degradação limitada da desmina durante a maturação resulta no encolhimento da estrutura miofibrilar, o que contribui para que a água seja liberada nos espaços extracelulares entre fibras e feixes de fibras musculares (canais de gotejamento) e, posteriormente, para fora do músculo (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005; Kristensen & Purslow, 2001) na forma de purga.

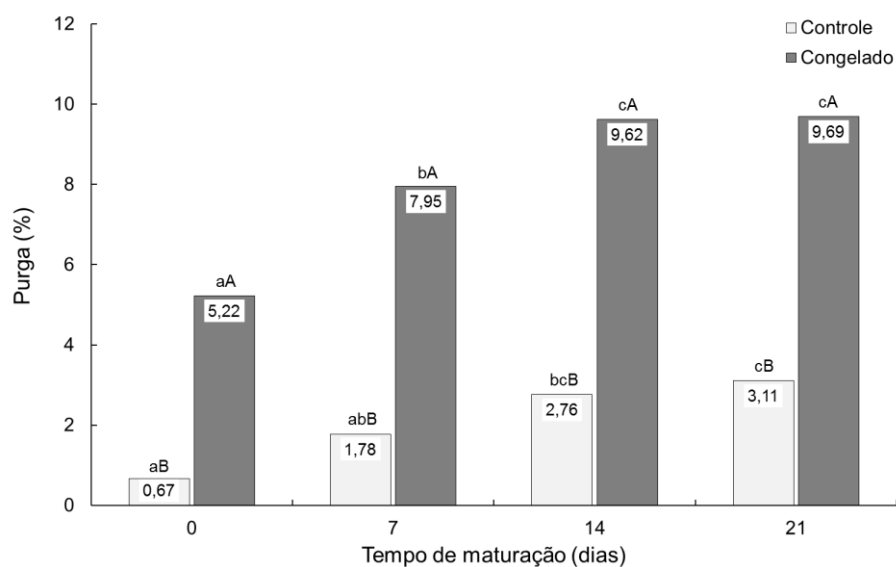


Figura 4 Valores médios da purga de músculos *L. thoracis* durante a maturação em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1°C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (abc) para o tempo de maturação e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

A purga também é um indicativo da habilidade da carne em reter água. Assim, as diferenças observadas entre a CRA e a purga são devidas à forma de mensuração desta capacidade. Na purga a única força aplicada foi a pressão negativa causada pela embalagem a vácuo, enquanto que na CRA uma força externa mecânica (pressão) foi usada para forçar a saída da água. Honikel e Hamm (1994) descrevem que, embora demorados, métodos que não aplicam força externa são mais sensíveis na mensuração da CRA. Nestes métodos, como na purga, apenas a água dos espaços extracelulares é exsudada (Honikel & Hamm, 1994; Offer & Knight, 1988), enquanto que métodos que aplicam força externa, como o de pressão em papel de filtro, induz a saída tanto da água intracelular quanto dos espaços extracelulares (Honikel & Hamm, 1994). Isto explica a diferença contraditória observada entre a CRA e a purga. Durante o período de maturação, a água extracelular da carne é progressivamente drenada através dos canais de gotejamento formados, resultando no aumento da purga. A menor presença de água nos espaços extracelulares com o tempo de maturação, associado à maior capacidade de acomodação da água intracelular devido à degradação das proteínas citoesqueléticas, explicam a redução observada na CRA.

No presente trabalho, a purga foi definida como sendo a combinação das perdas de exsudado durante o período de maturação com as perdas devido ao processo de descongelamento. Entretanto, embora Stuby et al. (1993) tenham reportado um aumento linear na purga de amostras congeladas e depois maturadas por 21 dias, estes autores não observaram diferenças nos valores de purga para as amostras maturadas e posteriormente congeladas. Já Farouk, Wiklund, Stuart, e Dobbie (2009) observaram uma redução na purga de amostras bovinas maturadas por até nove semanas e congeladas antes da análise. Fatores como tempo e temperatura de maturação, condições de congelamento e descongelamento e tempo de estocagem congelada influenciam a quantidade de

exsudado liberado (Eastridge & Bowker, 2011) e dificultam a comparação de resultados.

Da mesma forma que observado para purga, houve efeito significativo ($P < 0,05$) da interação congelamento x tempo de maturação para a perda por cozimento (PPC). Exceto para os tempos zero e sete de maturação, a PPC das amostras controle foram maiores ($P < 0,05$) do que das amostras congeladas (Figura 5). Isto pode ser devido à grande perda de água (purga) ocorrida nas amostras congeladas com o período de maturação, induzindo a menores perdas durante a cocção.

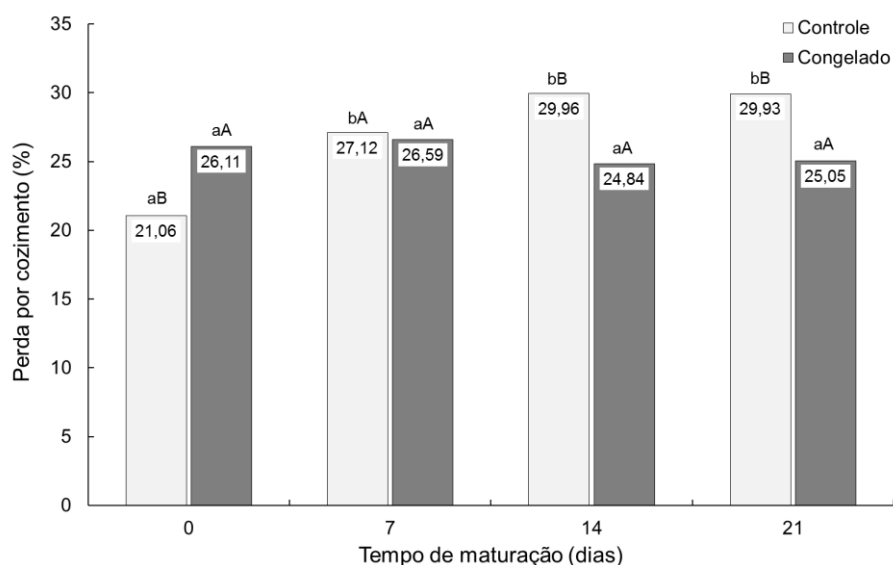


Figura 5 Valores médios da perda por cozimento (PPC) de músculos *L. thoracis* durante a maturação em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (ab) para o tempo de maturação e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

De forma geral, a perda estrutural oriunda do congelamento por si só aumenta os valores de PPC, mas a extensão da perda parece ser dependente da forma como a carne foi congelada: se antes ou depois da maturação. Vários trabalhos relataram que o congelamento prévio à maturação (Crouse & Koohmaraie, 1990; Grayson et al., 2014) ou o congelamento de amostras já maturadas para posterior análise (Hergenreder et al., 2013; Lagerstedt et al., 2008; Shanks et al., 2002; Vieira et al., 2009; Wheeler, Miller, et al., 1990) induz a maiores PPC do que quando a análise é feita em amostras maturadas frescas (não congeladas). Além disso, assim como observado neste experimento, Grayson et al. (2014) encontraram menores valores de PPC em amostras que foram congeladas e maturadas quando comparadas a amostras maturadas e posteriormente congeladas, embora outros trabalhos (Cohen, 1984; Stuby et al., 1993) não tenham observado diferença significativa.

A PPC das amostras controle aumentou no sétimo dia, permanecendo constante até o final dos 21 dias de maturação, enquanto nas amostras congeladas não houve diferença entre os tempos (Figura 5). Estes resultados são similares aos observados por Boakye e Mittal (1993), que encontraram aumentos nos valores de PPC entre o primeiro e segundo e entre o 12° e 16° dias de maturação. Shanks et al. (2002) também observaram um pequeno aumento nos valores de PPC de amostras maturadas por 35 dias, tanto nas amostras analisadas ainda frescas (não congeladas) quanto nas congeladas antes da análise. Por outro lado, outros trabalhos relataram não haver efeito nos valores de PPC com a maturação da carne, quando estas são avaliadas na amostra ainda fresca (Farouk et al., 2009; Hergenreder et al., 2013; Vieira et al., 2009; Wheeler, Miller, et al., 1990) ou congeladas antes da análise (Grayson et al., 2014).

Maiores perdas com o congelamento e com a maturação da carne tornam-se mais evidentes quando se avalia a perda de exsudado total (Figura 6). Além disso, a diferença na perda total entre as amostras controle e congeladas

diminuiu ($P < 0,05$) com o período de maturação. Com o aumento da degradação proteica durante a maturação, a carne perdeu gradativamente a sua capacidade inerente para reter água, resultando no aumento da perda total até o 21º dia. No entanto, nas carnes congeladas, o dano celular devido a formação de cristais de gelo se sobrepôs a este efeito, ocasionando uma grande perda de água pela purga, mas sem efeito na PPC, o que induziu a um aumento na perda total apenas no 7º dia de maturação. A partir do 14º dia, a diferença entre as perdas totais das amostras controle e congeladas não é mais significativa ($P > 0,05$). Isto reforça a premissa de que os menores valores de PPC observado nas amostras congeladas em relação às amostras controle são devidos à grande perda de água (purga) ocorrida nas amostras congeladas durante a maturação.

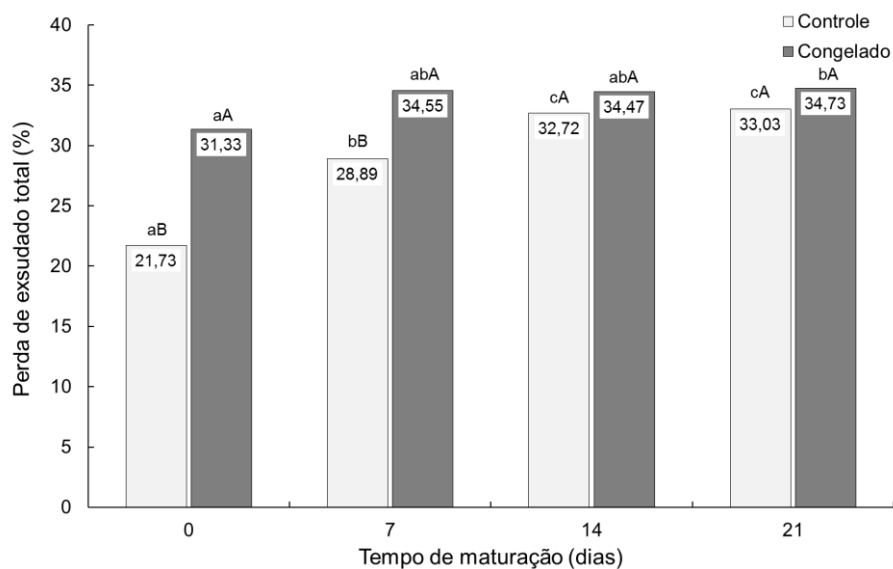


Figura 6 Valores médios da perda de exsudado total de músculos *L. thoracis* durante a maturação em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1°C. Letras iguais, minúsculas (abc) para o tempo de maturação e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Efeito similar foi observado por Lagerstedt et al. (2008) que, além de relatarem maiores perdas com a maturação, observaram uma redução de 25% no segundo dia e de 17% no sétimo dia na diferença das perdas totais entre as amostras maturadas analisadas frescas e congeladas, não havendo diferença no 14º dia de maturação. Entretanto, Farouk et al. (2009) não observaram alterações significativas durante a maturação nos valores de perda total entre amostras analisadas frescas e após o congelamento.

3.2 Proteólise e maciez

Dos atributos relacionados à textura e maciez da carne, houve efeito triplo (raça x congelamento x tempo de maturação) significativo apenas para a força de cisalhamento, sendo os efeitos decompostos e representados na Figura 7. Nas amostras controle, a força de cisalhamento (WBsSF) reduziu com o tempo, sendo maior nos animais Nelore durante todo o período de maturação. Isto corrobora a afirmativa de que a carne de animais *Bos indicus* apresentam menor maciez do que a de animais *Bos taurus* (Bressan et al., 2011; Johnson et al., 1990; Shackelford et al., 1991; Wheeler, Savell, et al., 1990; Whipple et al., 1990).

Considerando a classificação de maciez descrita por Destefanis, Brugiapaglia, Barge, e Dal Molin (2008) para carne bovina e utilizando a equação descrita por Silva et al. (2014) para conversão dos valores de WBSF para WBsSF, os seguintes limites de classificação pelo teste WBsSF podem ser considerados: amostras “macias” ($WBsSF < 4,3$); de “maciez intermediária” ($4,3 < WBsSF < 7,0$); e “duras” ($WBsSF > 7,0$). Baseado nesta classificação, as carnes do tratamento controle dos animais da raça Aberdeen Angus podem ser classificadas como macias já no 7º dia de maturação, enquanto as carnes de

Nelore praticamente atingiram esta classificação apenas no 21º dia, mas sendo classificadas como de maciez intermediária a partir do 7º dia.

Em relação ao congelamento prévio à maturação, houve uma redução de 1,52 kgf na WBSF das amostras de animais Angus já no primeiro dia de maturação, permanecendo constante (média de $4,92 \pm 1,08$ kgf) até o 21º dia. Outros trabalhos também observaram uma redução na força de cisalhamento de carnes maturadas devido ao congelamento, tanto em amostras congeladas após a maturação (Lagerstedt et al., 2008; Shanks et al., 2002; Vieira et al., 2009) quanto em amostras congeladas e maturadas (Carolino et al., 2009; Cohen, 1984; Crouse & Koohmaraie, 1990; Grayson et al., 2014). A redução na força de cisalhamento pelo congelamento é atribuída à perda da integridade estrutural ocasionada pela formação de cristais de gelo intracelular, que rompem as estruturas físicas, quebrando grande parte das miofibrilas e favorecendo a maciez da carne (Crouse & Koohmaraie, 1990; Grayson et al., 2014; Vieira et al., 2009). O efeito físico de cristais de gelo na estrutura das fibras musculares foi relatada em estudos sobre a microestrutura de carnes frescas e congeladas (Grujić et al., 1993; Petrović et al., 1993).

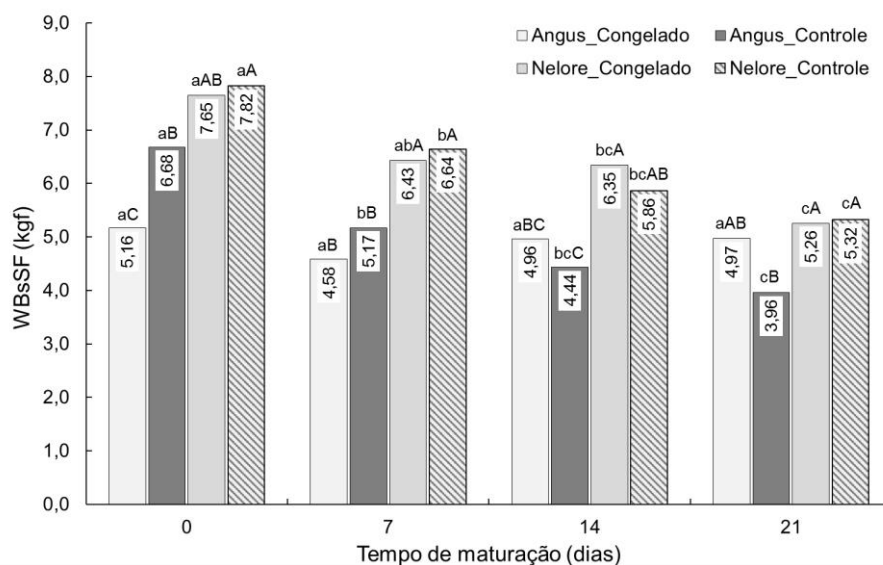


Figura 7 Força de cisalhamento (WBSF) de músculos *L. thoracis* de animais Nelore e Angus em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1°C. Letras iguais, minúsculas (abc) para o tempo de maturação e maiúsculas (ABC) para o tratamento/raça, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Entretanto, Grayson et al. (2014) reportaram que em amostras congeladas e posteriormente maturadas as menores forças de cisalhamento também se devem a uma maior proteólise *post mortem* resultante da inativação da calpastatina, induzida pelo congelamento. A proteólise na carne é caracterizada pela ação enzimática das proteases cálcio dependentes que provocam a degradação das miofibrilas (Koohmaraie, 1990). Koohmaraie, Whipple, Kretchmar, Crouse, and Mersmann (1991) demonstraram a influência do sistema das calpaínas e de seu inibidor específico, a calpastatina, na proteólise *post mortem*, caracterizando a relação calpastatina/calpaína como fator determinante na maciez da carne.

Uma maior proteólise com o congelamento, medido pelo índice de fragmentação (IF), também foi observada neste experimento (Figura 8), tendo havido efeito significativo ($P < 0,05$) da interação tratamento x tempo de maturação. O IF é um modo indireto de se medir a atividade do sistema enzimático das calpaínas/calpastatinas (McDonagh et al., 2001), onde menores valores (IF ~ 100) indicam maior degradação das miofibrilas e, conseqüentemente, amostras mais macias (Ramos & Gomide, 2007; Riley et al., 2005). Riley et al. (2005) observaram correlações positivas ($r = 0,22$ a $0,26$) entre os valores de força de cisalhamento e IF durante a maturação (7, 14 e 21 dias) da carne de bovinos zebuínos. No presente experimento, uma maior correlação ($r = 0,49$; $P < 0,0001$) foi observada entre os valores de WBsSF e IF, e corrobora a afirmação de Hopkins, Littlefield, e Thompson (2000) de que, ao refletir a intensidade de proteólise das miofibrilas, o índice de fragmentação pode prever mais de 50% da variação na textura da carne.

Para as carnes de ambos os animais (Angus e Nelore) a proteólise foi maior naquelas maturadas após o congelamento, sendo que a maior taxa proteolítica ocorreu nos primeiros 7 dias. Maiores taxas de proteólise são devidas, possivelmente, à inativação da calpastatina durante o congelamento, o que favoreceria a atividade proteolítica das calpaínas durante a maturação das amostras descongeladas. Koohmaraie (1990) demonstrou que a atividade da calpastatina reduziu em 55% com o armazenamento congelado (-70 °C) por 6 semanas, enquanto que a atividade da m- e μ -calpaínas não foram afetadas no período. Redução similar (50%) na atividade da calpastatina foi reportada por Ingolfsson e Dransfield (1991) em carnes de cordeiros congeladas a -20 °C. Whipple e Koohmaraie (1992) também reportaram uma susceptibilidade à inativação da calpastatina ao congelamento, enquanto que a μ -calpaína não é afetada quando as carnes são congeladas pós-rigor.

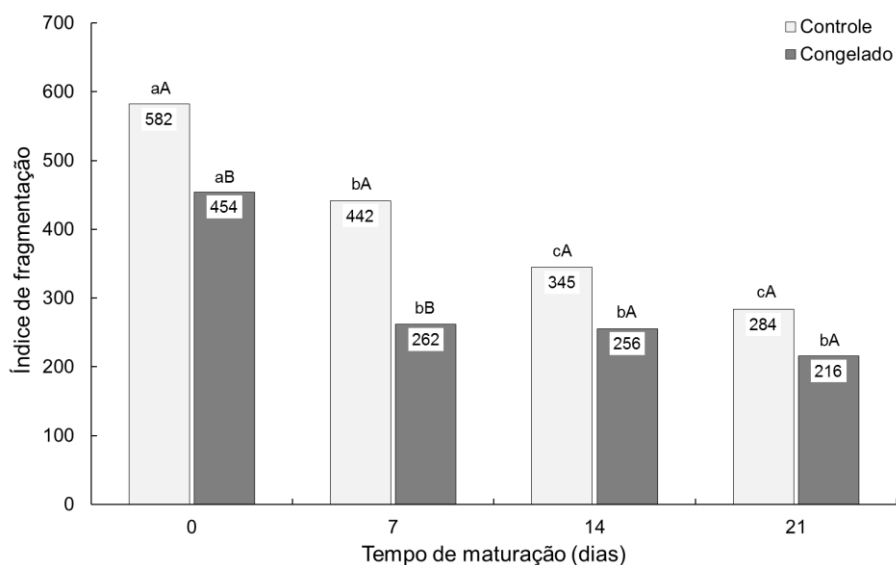


Figura 8 Índice de fragmentação de músculos *L. thoracis* durante a maturação em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (abc) para o tempo de maturação e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Grayson et al. (2014) relataram grande porcentagem de degradação da proteína desmina em amostras que foram congeladas e posteriormente maturadas quando comparadas com as amostras maturadas frescas, considerando o mesmo tempo de maturação *post mortem*. Estes autores concluíram que 25 a 35% da redução nos valores de força de cisalhamento de músculos *L. lumborum* congelados e maturados são devidos à proteólise, sendo o restante (de 65 a 75%) devido ao efeito do congelamento por si só. No presente experimento, no entanto, embora o congelamento tenha afetado significativamente o IF na carne de ambas as raças, a WBSF foi afetada apenas nas amostras de animais Angus no tempo zero, não sendo observada nenhuma diferença entre as amostras controle e congeladas de animais Nelore durante todo o período de maturação

(Figura 7). Desta forma, os efeitos do congelamento na carne foram dependentes do genótipo animal. Segundo Farouk e Wieliczko (2003) e Zhang et al. (2005) os efeitos do congelamento sobre a qualidade da carne são dependentes das suas características intrínsecas.

Também foi observado um efeito significativo ($P < 0,05$) da interação raça x tempo de maturação para os valores de IF. Uma maior taxa proteolítica foi observada na carne de animais Angus, onde houve uma queda brusca nos valores de IF já no 7º dia, permanecendo constante até o 21º dia de maturação. Para as carnes dos animais Nelore, a queda nos valores de IF foi constante e linear (Figura 9). Estas diferenças na taxa de proteólise *post mortem* é justificada pelos maiores níveis de calpastatina observada na carne de animais *Bos indicus* quando comparado a *Bos taurus* (Koohmaraie & Geesink, 2006; Shackelford et al., 1991; Whipple et al., 1990).

Além da proteólise do componente miofibrilar, o comprimento do sarcômero e o tecido conectivo contribuem para explicar a variação observada na maciez da carne (Belew, Brooks, McKenna, & Savell, 2003; Koohmaraie, Kent, Shackelford, Veiseth, & Wheeler, 2002). Entretanto, o tecido conectivo e o comprimento de sarcômero não se alteram significativamente durante a maturação, sendo relacionados com a dureza intrínseca (“*background toughness*”) da carne, já existente no momento do abate (Koohmaraie, 1996; Koohmaraie, Doumit, & Wheeler, 1996; Koohmaraie & Geesink, 2006). Uma vez que o congelamento afetou o IF em ambas as carnes (Nelore e Angus), as diferenças na WBsSF entre estas raças podem ser devido à contribuição do comprimento do sarcômero e, ou, do tecido conectivo.

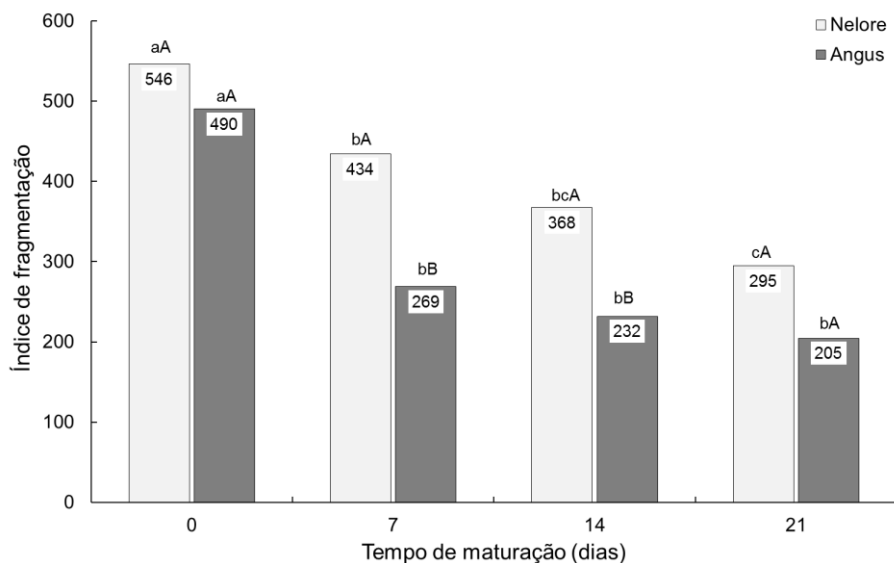


Figura 9 Índice de fragmentação de músculos *L. thoracis* de animais Nelore e Angus em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (abc) para o tempo de maturação e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Para o comprimento do sarcômero não foi verificado efeito significativo ($P > 0,05$) das interações, mas houve efeito ($P < 0,05$) isolado da raça e do tempo de maturação (Tabela 1). Os valores médios do comprimento de sarcômero observados neste experimento são similares aos relatados (Ahnström, Hunt, & Lundström, 2012; Bouton, Fisher, Harris, & Baxter, 1973; Hou et al., 2014) para músculos *L. dorsi* de carcaças bovinas submetidas à pendura pelo obturador foramen. Em parte, a maior WBsSF pode ser devida ao maior encurtamento no comprimento dos sarcômeros observado na carne de animais Nelore ($1,97 \pm 0,31 \mu\text{m}$) em comparação com a de Angus ($2,27 \pm 0,34 \mu\text{m}$). O impacto negativo do encurtamento miofibrilar na maciez inicial da carne já foi relatada (Koohmaraie et al., 2002; Rhee, Wheeler, Shackelford, & Koohmaraie,

2004; Wheeler & Koohmaraie, 1999). Pesquisas anteriores (Bouton et al., 1973; Smulders, Marsh, Swartz, Russell, & Hoenecke, 1990; Wheeler, Shackelford, & Koohmaraie, 2000) sugerem que a dureza da carne inicia quando o comprimento do sarcômero atinge valores menores que 2,0 μm . Bouton et al. (1973) relataram que a dureza miofibrilar medida pela força de cisalhamento era independente do comprimento de sarcômero quando este era maior do que 1,8 μm , mas que uma forte correlação era observada quando apenas amostras com sarcômeros menores que 2,0 μm eram consideradas. Smulders et al. (1990) observaram que a relação entre a maciez percebida sensorialmente e o comprimento do sarcômero pode ser expresso por uma curva sigmoïdal com ponto de inflexão em 1.8 μm , a partir do qual maiores valores estão associados à maciez da carne.

Entretanto, com o processo de maturação o efeito proteolítico torna-se mais importante (Koohmaraie et al., 1996; Wheeler & Koohmaraie, 1999) do que o comprimento do sarcômero. Koohmaraie (1996) sugere que, devido à grande diferenças nos valores dos comprimentos dos sarcômeros, a relação entre este e força de cisalhamento é modificada durante a maturação; segundo o autor, no primeiro dia *post mortem* é de se esperar uma forte correlação entre o comprimento dos sarcômeros e a força de cisalhamento, enquanto que à medida que ocorre a maturação da carne esta correlação torna-se mais fraca. Isto condiz com a baixa correlação ($r = -0,18$; $P = 0,0030$) observada entre o comprimento de sarcômero e a WBSF no presente experimento. Além disso, não foi observada correlação ($r = 0,04$; $P = 0,6471$) da WBSF com amostras com comprimento de sarcômero acima de 2,0 μm ; enquanto, uma correlação significativa e maior ($r = -0,33$; $P < 0,0001$) foi observada nas amostras com sarcômeros menores que 2,0 μm , o que corrobora as observações de Bouton et al. (1973).

Segundo Wheeler e Koohmaraie (1999), apesar do comprimento do sarcômero estar diretamente relacionado com a maciez da carne, ele não tem

ação na extensão da proteólise, sendo seus efeitos principais atribuídos ao encurtamento no início do processo de maturação. Neste sentido, o comprimento de sarcômero inicial (tempo zero) foi menor ($P < 0,05$) nas amostras de animais Nelores ($2,03 \pm 0,28 \mu\text{m}$) do que nas de Angus ($2,33 \pm 0,37 \mu\text{m}$). Uma vez que o grau de encurtamento muscular é dependente da temperatura de armazenamento da carcaça (Locker & Hagyard, 1963), esta diferença pode ser devido a um resfriamento mais rápido da carcaça dos animais Nelores, oriundas, possivelmente, de uma menor quantidade de gordura subcutânea quando comparado com a de animais Angus. Crouse, Cundiff, Koch, Koohmaraie, e Seideman (1989), Whipple et al. (1990) e Wheeler, Cundiff, e Koch (1994) encontraram menor marmoreio e espessura de gordura subcutânea em cruzas de animais com maior participação de sangue zebu. Revisando a literatura científica sobre a caracterização da raça e parâmetros genéticos para as características da carcaça de bovinos de corte, Marshall (1994) observou que animais da raça Angus apresentaram maiores valores de gordura de marmoreio e de gordura de cobertura comparado a animais da raça Nelore.

Wheeler et al. (2000) sugerem que a variável comprimento de sarcômero seja tratada em dois grupos distintos (sarcômeros $> 2,0 \mu\text{m}$ e sarcômeros $< 2,0 \mu\text{m}$), que interagem de forma diferente com o grau de proteólise e o teor de colágeno da amostra. Segundo estes autores, enquanto nas amostras com sarcômero $> 2,0 \mu\text{m}$ a maciez é independente das variáveis proteólise e colágeno, nas amostras com sarcômero $< 2,0 \mu\text{m}$ ambas as variáveis (proteólise e colágeno) estão relacionados à maciez. Isto condiz com a observação de Bouton et al. (1973) de que quando o efeito do colágeno é alto no músculo, as mudanças no componente miofibrilar têm um efeito relativamente menor na percepção subjetiva da maciez. Desta forma, o tecido conectivo pode ser outro fator intrínseco que pode estar associado às diferenças observadas na WBSF de carnes de animais Nelore e Angus no presente experimento. Torrecano,

Sánchez-Escalante, Giménez, Roncalés, e Beltrán (2003) encontraram correlação positiva entre a força de cisalhamento e o conteúdo de colágeno total ($r = 0,72$) e de colágeno insolúvel ($r = 0,66$) em vários músculos de animais taurinos. Oliveira (2013) observou que músculos *L. dorsi* de animais Nelore apresentaram maior quantidade de colágeno total e de colágeno insolúvel quando comparados aos de animais F1 Red Angus x Nelore. Entretanto, Whipple et al. (1990) não observaram diferença no conteúdo de colágeno total e insolúvel de músculos de diferentes cruzas de gados *Bos indicus* e *Bos taurus*.

O comprimento do sarcômero apresentou correlação negativa com a purga ($r = -0,32$; $P < 0,0001$) e a perda de exsudado total ($r = -0,23$; $P < 0,0001$) e positiva com o pH ($r = 0,21$; $P = 0,0007$). Isto está de acordo com a observação de Honikel, Kim, Hamm, e Roncales (1986) de que há uma relação linear negativa entre o encurtamento do sarcômero e a perda de água pela carne. Isto ocorre devido ao efeito estérico, uma vez que o encurtamento do sarcômero reduz o espaço disponível para a água dentro da miofibrila (Pearce et al., 2011), local onde a maior parte da água muscular está localizada (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005). Além disso, as correlações negativas do comprimento do sarcômero com os parâmetros de perda de água corroboram a observação anterior de que o aumento observado na purga e na perda de exsudado total durante a maturação é parcialmente devido à liberação progressiva e drenagem da água intracelular induzida pelo encolhimento da estrutura miofibrilar. No entanto, não houve correlação significativa ($P > 0,05$) entre a WBsSF e estes parâmetros, embora uma correlação negativa ($r = -0,17$; $P = 0,0056$) tenha sido observado entre a WBsSF e a CRA.

4 CONCLUSÃO

O congelamento prévio à maturação reduziu a força de cisalhamento das carnes de animais Aberdeen Angus no primeiro dia de armazenamento, sendo similares aos valores observados no 14º dia de maturação. No entanto, apesar de induzir a uma maior proteólise, o congelamento não afetou a força de cisalhamento da carne de animais Nelore. Estes resultados sugerem que o congelamento prévio à maturação pode ser uma alternativa para resolver o problema de inconsistência na maciez da carne.

5 REFERÊNCIAS

- ABIEC. (2014). Balanço da pecuária brasileira Retrieved May 15, 2014, from <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/>
- Ahnström, M. L., Hunt, M. C., & Lundström, K. (2012). Effects of pelvic suspension of beef carcasses on quality and physical traits of five muscles from four gender–age groups. *Meat Science*, *90*(3), 528-535. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.09.003>
- AMSA. (1995). *Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Fresh Meat*. Chicago: American Meat Science Association (AMSA) & National Live Stock and Meat Board.
- Añón, M. C., & Calvelo, A. (1980). Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. *Meat Science*, *4*(1), 1-14. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(80\)90018-2](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(80)90018-2)
- Belew, J. B., Brooks, J. C., McKenna, D. R., & Savell, J. W. (2003). Warner–Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. *Meat Science*, *64*(4), 507-512. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00242-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00242-5)
- Boakye, K., & Mittal, G. S. (1993). Changes in pH and water holding properties of Longissimus dorsi muscle during beef ageing. *Meat Science*, *34*(3), 335-349. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(93\)90082-S](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(93)90082-S)
- Bouton, P. E., Fisher, A. L., Harris, P. V., & Baxter, R. I. (1973). A comparison of the effects of some post-slaughter treatments on the tenderness of beef. *International Journal of Food Science & Technology*, *8*(1), 39-49. doi: 10.1111/j.1365-2621.1973.tb01687.x

- Bressan, M. C., Rodrigues, E. C., Rossato, L. V., Ramos, E. M., & Gama, L. T. d. (2011). Physicochemical properties of meat from *Bos taurus* and *Bos indicus*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *40*, 1250-1259.
- Carolino, M. I., Rodrigues, M. I., Bressan, M. C., Carolino, N., Espadinha, P., & Telo da Gama, L. (2009). pH e força de corte da carne de bovinos alentejanos e mertolengos. *Archivos de Zootecnia*, *58*(1).
- Cohen, T. (1984). Aging of Frozen Parts of Beef. *Journal of Food Science*, *49*(4), 1174-1177. doi: 10.1111/j.1365-2621.1984.tb10421.x
- Cross, H. R., West, R. L., & Dutson, T. R. (1981). Comparison of methods for measuring sarcomere length in beef semitendinosus muscle. *Meat Science*, *5*(4), 261-266. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(81\)90016-4](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(81)90016-4)
- Crouse, J. D., Cundiff, L. V., Koch, R. M., Koohmaraie, M., & Seideman, S. C. (1989). Comparisons of *Bos indicus* and *Bos taurus* inheritance for carcass beef characteristics and meat palatability. *Journal of Animal Science*, *67*(10), 2661-2668.
- Crouse, J. D., & Koohmaraie, M. (1990). Effect of freezing of beef on subsequent postmortem aging and shear force. *Journal of Food Science*, *52*(2), 573-574.
- Davis, G. W., Dutson, T. R., Smith, G. C., & Carpenter, Z. L. (1980). Fragmentation procedure for bovine longissimus muscle as an index of cooked steak tenderness. *Journal of Food Science*, *45*(4), 880-884. doi: 10.1111/j.1365-2621.1980.tb07470.x
- Destefanis, G., Brugiapaglia, A., Barge, M. T., & Dal Molin, E. (2008). Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner-Bratzler shear force. *Meat Science*, *78*, 153-156.
- Eastridge, J. S., & Bowker, B. C. (2011). Effect of Rapid Thawing on the Meat Quality Attributes of USDA Select Beef Strip Loin Steaks. *Journal of Food Science*, *76*(2), S156-S162. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.02037.x
- Farouk, M. M., & Wieliczko, K. J. (2003). Effect of diet and fat content on the functional properties of thawed beef. *Meat Science*, *64*(4), 451-458. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00214-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00214-0)
- Farouk, M. M., Wieliczko, K. J., & Merts, I. (2004). Ultra-fast freezing and low storage temperatures are not necessary to maintain the functional properties of manufacturing beef. *Meat Science*, *66*(1), 171-179. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00081-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00081-0)
- Farouk, M. M., Wiklund, E., Stuart, A., & Dobbie, P. (2009). *Ageing prior to freezing improves waterholding capacity in beef and venison*. Paper presented at the 55th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), Copenhagen, Denmark.
- Fennema, O. R. (1996). *Food Chemistry, Third Edition*: Taylor & Francis.

- Ferguson, D. M., Jiang, S.-T., Hearnshaw, H., Rymill, S. R., & Thompson, J. M. (2000). Effect of electrical stimulation on protease activity and tenderness of *M. longissimus* from cattle with different proportions of *Bos indicus* content. *Meat Science*, *55*(3), 265-272. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00131-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00131-X)
- Grayson, A. L., King, D. A., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., & Wheeler, T. L. (2014). Freezing and thawing or freezing, thawing, and aging effects on beef tenderness. *Journal of Animal Science*, *92*(6), 2735-2740. doi: 10.2527/jas.2014-7613
- Grujić, R., Petrović, L., Pikula, B., & Amidžić, L. (1993). Definition of the optimum freezing rate—1. Investigation of structure and ultrastructure of beef *M. longissimus dorsi* frozen at different freezing rates. *Meat Science*, *33*(3), 301-318. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(93\)90003-Z](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(93)90003-Z)
- Hergenreder, J. E., Hosch, J. J., Varnold, K. A., Haack, A. L., Senaratne, L. S., Pokharel, S., . . . Calkins, C. R. (2013). The effects of freezing and thawing rates on tenderness, sensory quality, and retail display of beef subprimals. *Journal of Animal Science*, *91*(1), 483-490. doi: 10.2527/jas.2012-5223
- Honikel, K. O., & Hamm, R. (1994). Measurement of water-holding capacity and juiciness. In A. M. Pearson & T. R. Dutson (Eds.), *Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products* (pp. 125-161). New York: Blackie Academic & Professional.
- Honikel, K. O., Kim, C. J., Hamm, R., & Roncales, P. (1986). Sarcomere shortening of prerigor muscles and its influence on drip loss. *Meat Science*, *16*(4), 267-282. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(86\)90038-0](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(86)90038-0)
- Hopkins, D. L., Littlefield, P. J., & Thompson, J. M. (2000). A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. *Meat Science*, *56*(1), 19-22. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00012-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00012-7)
- Hou, X., Liang, R., Mao, Y., Zhang, Y., Niu, L., Wang, R., . . . Luo, X. (2014). Effect of suspension method and aging time on meat quality of Chinese fattened cattle *M. Longissimus dorsi*. *Meat Science*, *96*(1), 640-645. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.08.026
- Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, *71*(1), 194-204. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.022>
- Ingolfsson, R., & Dransfield, E. (1991). The effects of low voltage electrical stimulation and freezing on tenderisation, enzyme activities, drip losses and cooking losses of lamb. *Icelandic Agricultural Science*, *5*, 63-80.

- Jayasooriya, S. D., Torley, P. J., D'Arcy, B. R., & Bhandari, B. R. (2007). Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine Semitendinosus and Longissimus muscles. *Meat Science*, *75*(4), 628-639. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.09.010>
- Jeong, J.-Y., Kim, G.-D., Yang, H.-S., & Joo, S.-T. (2011). Effect of freeze-thaw cycles on physicochemical properties and color stability of beef semimembranosus muscle. *Food Research International*, *44*(10), 3222-3228. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.08.023>
- Johnson, D. D., Huffman, R. D., Williams, S. E., & Hargrove, D. D. (1990). Effects of percentage Brahman and Angus breeding, age-season of feeding and slaughter end point on meat palatability and muscle characteristics. *Journal of Animal Science*, *68*(7), 1980-1986.
- Koohmaraie, M. (1990). Quantification of Ca²⁺-dependent protease activities by hydrophobic and ion-exchange chromatography. *Journal of Animal Science*, *68*(3), 659-665.
- Koohmaraie, M. (1994). Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science*, *36*(1-2), 93-104. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(94\)90036-1](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(94)90036-1)
- Koohmaraie, M. (1996). Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Science*, *43*, Supplement 1(0), 193-201. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(96\)00065-4](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(96)00065-4)
- Koohmaraie, M., Doumit, M. E., & Wheeler, T. L. (1996). Meat toughening does not occur when rigor shortening is prevented. *Journal of Animal Science*, *74*(12), 2935-2942.
- Koohmaraie, M., & Geesink, G. H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, *74*(1), 34-43. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.025>
- Koohmaraie, M., Kent, M. P., Shackelford, S. D., Veiseth, E., & Wheeler, T. L. (2002). Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? *Meat Science*, *62*(3), 345-352. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00127-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00127-4)
- Koohmaraie, M., Whipple, G., Kretchmar, D. H., Crouse, J. D., & Mersmann, H. J. (1991). Postmortem proteolysis in longissimus muscle from beef, lamb and pork carcasses. *Journal of Animal Science*, *69*(2), 617-624.
- Koolmees, P. A., Korteknie, F., & Smulders, F. J. M. (1986). Accuracy and utility of sarcomere length assessment by laser diffraction. *Food Microstructure*, *5*, 71-76.
- Kristensen, L., & Purslow, P. P. (2001). The effect of ageing on the water-holding capacity of pork: role of cytoskeletal proteins. *Meat Science*, *58*(1), 17-23. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00125-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00125-X)
- Lagerstedt, Å., Enfält, L., Johansson, L., & Lundström, K. (2008). Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef M.

- longissimus dorsi. *Meat Science*, 80(2), 457-461. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.01.009>
- Lagerstedt, Å., Lundström, K., & Lindahl, G. (2011). Influence of vacuum or high-oxygen modified atmosphere packaging on quality of beef M. longissimus dorsi steaks after different ageing times. *Meat Science*, 87(2), 101-106. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.08.010>
- Lawrie, R. A. (2006). *Lawrie's Meat Science* (7th ed.): Woodhead Publishing.
- Leygonie, C., Britz, T. J., & Hoffman, L. C. (2012). Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*, 91(2), 93-98. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.013>
- Locker, R. H., & Hagyard, C. J. (1963). A cold shortening effect in beef muscles. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 14(11), 787-793. doi: 10.1002/jsfa.2740141103
- Marshall, D. M. (1994). Breed differences and genetic parameters for body composition traits in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 72(10), 2745-2755.
- McDonagh, M. B., Herd, R. M., Richardson, E. C., Oddy, V. H., Archer, J. A., & Arthur, P. F. (2001). Meat quality and the calpain system of feedlot steers following a single generation of divergent selection for residual feed intake. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(7), 1013-1021. doi: <http://dx.doi.org/10.1071/EA00024>
- Offer, G., & Knight, P. (1988). The structural basis of water-holding capacity in meat. In Lawrie (Ed.), *Developments in meat science* (Vol. 4, pp. 61-243). New York: Elsevier Applied Science.
- Oliveira, I. M. (2013). *Glicerina bruta na dieta de bovinos Nelore e F1 Red Angus x Nelore: desempenho, características de carcaça e avaliação qualitativa de nove músculos, maturados ou não*. Doutorado Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Pearce, K. L., Rosenvold, K., Andersen, H. J., & Hopkins, D. L. (2011). 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*, 89(2), 111-124. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.007>
- Petrović, L., Grujić, R., & Petrović, M. (1993). 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*, 33(3), 319-331. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(93\)90004-2](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(93)90004-2)
- Ramos, E. M., & Gomide, L. A. M. (2007). *Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias*. (1 ed.). Viçosa: Editora UFV.

- Rhee, M. S., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., & Koohmaraie, M. (2004). Variation in palatability and biochemical traits within and among eleven beef muscles. *Journal of Animal Science*, *82*(2), 534-550.
- Riley, D. G., Johnson, D. D., Chase Jr, C. C., West, R. L., Coleman, S. W., Olson, T. A., & Hammond, A. C. (2005). Factors influencing tenderness in steaks from Brahman cattle. *Meat Science*, *70*(2), 347-356. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.01.022>
- Ruiz de Huidobro, F., Miguel, E., Onega, E., & Blázquez, B. (2003). Changes in meat quality characteristics of bovine meat during the first 6 days post mortem. *Meat Science*, *65*(4), 1439-1446. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00068-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00068-8)
- Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Miller, M. F., Crouse, J. D., & Reagan, J. O. (1991). An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. *Journal of Animal Science*, *69*(1), 171-177.
- Shanks, B. C., Wulf, D. M., & Maddock, R. J. (2002). 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*, *80*(8), 2122-2125.
- Silva, D. R. G., Cazedey, H. P., Torres Filho, R. A., Fontes, P. R., Ramos, A. L. S., & Ramos, E. M. (2014). Relationships of round and square cores on Warner-Bratzler shear force values from beef and pork loins. *Meat Science*, (submitted for publication).
- Silveira, I. D. B., Fischer, V., & Soares, G. J. D. (2006). Relação entre o genótipo e o temperamento de novilhos em pastejo e seu efeito na qualidade da carne. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *35*, 519-526.
- Smulders, F. J., Marsh, B. B., Swartz, D. R., Russell, R. L., & Hoenecke, M. E. (1990). Beef tenderness and sarcomere length. *Meat Science*, *28*(4), 349-363. doi: 10.1016/0309-1740(90)90048-b
- Stuby, M. A., Lamkey, J. W., & Dolezal, H. G. (1993). The effect of freezing on aging of beef *Animal Science Research Report* (pp. 55-59). Stillwater: Oklahoma Agric. Exp. Stn.
- Torrescano, G., Sánchez-Escalante, A., Giménez, B., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2003). Shear values of raw samples of 14 bovine muscles and their relation to muscle collagen characteristics. *Meat Science*, *64*(1), 85-91. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00165-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00165-1)
- Troy, D. J., & Kerry, J. P. (2010). Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Science*, *86*(1), 214-226. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.009>
- USDA. (2014). USDA Foreign Agricultural Service. Retrieved May, 2014, from <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/>

- Vieira, C., Diaz, M. T., Martínez, B., & García-Cachán, M. D. (2009). 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*, 83(3), 398-404. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.013>
- Wagner, J. R., & Añon, M. C. (1985). Effect of freezing rate on the denaturation of myofibrillar proteins. *International Journal of Food Science & Technology*, 20(6), 735-744. doi: 10.1111/j.1365-2621.1985.tb01971.x
- Wheeler, T. L., Cundiff, L. V., & Koch, R. M. (1994). Effect of marbling degree on beef palatability in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *Journal of Animal Science*, 72(12), 3145-3151.
- Wheeler, T. L., & Koohmaraie, M. (1999). The extent of proteolysis is independent of sarcomere length in lamb longissimus and psoas major. *Journal of Animal Science*, 77(9), 2444-2451.
- Wheeler, T. L., Miller, R. K., Savell, J. W., & Cross, H. R. (1990). Palatability of Chilled and Frozen Beef Steaks. *Journal of Food Science*, 55(2), 301-304. doi: 10.1111/j.1365-2621.1990.tb06748.x
- Wheeler, T. L., Savell, J. W., Cross, H. R., Lunt, D. K., & Smith, S. B. (1990). Mechanisms associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle. *Journal of Animal Science*, 68(12), 4206-4220.
- Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., & Koohmaraie, M. (2000). Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. *Journal of Animal Science*, 78(4), 958-965.
- Whipple, G., & Koohmaraie, M. (1992). Freezing and calcium chloride marination effects on beef tenderness and calpastatin activity. *Journal of Animal Science*, 70(10), 3081-3085.
- Whipple, G., Koohmaraie, M., Dikeman, M. E., Crouse, J. D., Hunt, M. C., & Klemm, R. D. (1990). Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *Journal of Animal Science*, 68(9), 2716-2728.
- Zhang, S. X., Farouk, M. M., Young, O. A., Wieliczko, K. J., & Podmore, C. (2005). Functional stability of frozen normal and high pH beef. *Meat Science*, 69(4), 765-772. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.11.009>

**Artigo 2 - EFEITOS DO TEMPO DE MATURAÇÃO NA COLORAÇÃO
DA CARNE DESCONGELADA DE BOVINOS DA RAÇA
NELORE E ABERDEEN ANGUS**

ARTIGO 2

Artigo redigido conforme a norma da revista *Food Research International*
“Versão Preliminar”

**EFEITOS DO TEMPO DE MATURAÇÃO NA COLORAÇÃO DA
CARNE DESCONGELADA DE BOVINOS DA RAÇA NELORE E
ABERDEEN ANGUS**

*Effect of aging time in vacuum on color of frozen-thawed beef from Nelore
and Aberdeen Angus cattle*

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do congelamento prévio à maturação sobre a coloração da carne bovina de animais da raça Nelore e Aberdeen Angus. Amostras do músculo *longissimus thoracis* foram submetidas a dois tratamentos: maturação convencional; e congelamento (-20 °C por 40 dias), seguido do descongelamento e períodos de maturação. As carnes foram avaliadas após 0, 7, 14 e 21 dias de maturação (1 °C). O congelamento favoreceu ($P < 0,05$) a formação da metamioglobina na carne durante a maturação, especialmente nas de animais Nelores. As carnes congeladas apresentaram menores ($P < 0,05$) valores de luminosidade (L^*) e maiores ($P < 0,05$) valores nos índices de vermelho (a^*), de amarelo (b^*), saturação (C^*) e tonalidade (h^*) nos primeiros dias de armazenamento, se deteriorando rapidamente durante a maturação. Entretanto, no 21º dia de maturação, os índices de cor L^* , a^* e C^* das carnes congeladas foram similares aos das carnes não-congeladas no tempo zero de maturação. A cor da carne de animais Nelore foi menos estável ao congelamento, se apresentando mais claras e de tonalidade mais amarelada e menos intensa do que a de animais Aberdeen Angus. Os resultados sugerem que a estabilidade da cor da carne embalada a vácuo é reduzida com o congelamento prévio à maturação, sendo esta redução dependente da raça animal.

Palavras-chave: Aberdeen Angus, Nelore, metamioglobina, CIELAB.

1 INTRODUÇÃO

O aumento da demanda dos consumidores por produtos seguros, nutritivos e de vida útil estável tem impulsionado a indústria na busca de melhorias para reduzir a perda de qualidade durante a distribuição e armazenamento da carne (Ben Abdallah, Marchello, & Ahmad, 1999). Neste sentido, a cor é o fator mais importante que influencia fortemente a decisão de compra pelos consumidores, que associam a descoloração da carne como indicativo de má qualidade quanto ao frescor e sua salubridade (Mancini & Hunt, 2005; Ramos & Gomide, 2007).

A cor da carne é dependente do teor de pigmentos heme e da estrutura muscular (Ramos & Gomide, 2007), mas é determinada principalmente pelos conteúdos relativos das três formas redox de mioglobina: deoximioglobina (Mb^+), oximioglobina (O_2Mb) e metamioglobina (MMb). Quando a carne recém cortada é exposta ao oxigênio, a cor vermelho púrpura da Mb^+ é convertida a vermelho brilhante, devido à formação da O_2Mb , em um processo conhecido como oxigenação (*blooming*). No entanto, ao longo do armazenamento refrigerado a estabilidade da cor da carne deteriora gradualmente (Boakye & Mittal, 1996; Jeremiah, 2001), ocasionado por um acúmulo progressivo da MMb na superfície da carne (Bevilacqua & Zaritzky, 1986; Jeremiah & Gibson, 2001), com consequente descoloração da cor vermelha para uma cor amarronzada.

No Brasil, assim como em outros países, a embalagem a vácuo é comumente utilizada no acondicionamento e comercialização de cortes primários e sub-primários de carne fresca. Com a remoção do ar e manutenção de condições anaeróbicas, o sistema a vácuo reduz a ação microbiana, a

descoloração da carne e a oxidação de lipídios (Jeremiah, 2001; Lanari, Bevilacqua, & Zaritzky, 1990; Lindahl, 2011; Robertson, 2005), permitindo estender a vida útil do produto. No entanto, a falta de oxigênio resulta em uma carne de cor vermelho púrpura, devido ao pigmento Mb⁺, pouco atrativo para os consumidores (Carpenter, Cornforth, & Whittier, 2001; Ramos & Gomide, 2007). Assim, a embalagem a vácuo não é frequentemente usada na exposição da carne refrigerada no varejo (Lagerstedt, Lundström, & Lindahl, 2011; Lindahl, 2011), sendo comum nos supermercados a remoção da embalagem a vácuo original, após um período de maturação, e o re-acondicionamento da carne em sistemas de alta permeabilidade ao oxigênio, garantindo a cor vermelha brilhante atrativa para o consumidor no momento da compra. Nesta situação, a capacidade da carne em oxigenar após o armazenamento a vácuo torna-se muito importante.

A manutenção da carne embalada a vácuo em um ambiente refrigerado (maturação) antes da distribuição para o varejo é amplamente utilizada pela indústria para melhorar a maciez, o que resulta em um produto mais homogêneo e aceitável para os consumidores (Monsón, Sañudo, & Sierra, 2004; Vitale, Pérez-Juan, Lloret, Arnau, & Realini, 2014). O favorecimento da maciez é devido à ação prolongada de enzimas naturalmente presentes nas carnes, que levam à proteólise do componente miofibrilar (Koohmaraie, 1996). Koohmaraie, Whipple, Kretchmar, Crouse, and Mersmann (1991) demonstraram a influência do sistema das calpaínas e de seu inibidor específico, a calpastatina, na proteólise *post mortem*, caracterizando a relação calpastatina/calpaína como fator determinante na maciez da carne. Neste sentido, alguns autores (Aroeira, 2014; Cohen, 1984; Crouse & Koohmaraie, 1990; Grayson, King, Shackelford, Koohmaraie, & Wheeler, 2014) têm sugerido que o processo de congelamento da carne realizado antes da maturação pode ser uma alternativa para reduzir a

ação da calpastatina, minimizando os seus efeitos e favorecendo a maciez final da carne bovina.

Tradicionalmente, o congelamento é utilizado como forma de prolongar o tempo de armazenamento da carne, oferecendo um produto com qualidade nutricional similar ao da carne fresca. Entretanto, alguns estudos (Ben Abdallah et al., 1999; Jeong, Kim, Yang, & Joo, 2011; Lanari et al., 1990; Lanari & Zaritzky, 1991) apontam que o congelamento e descongelamento da carne contribuem para uma rápida deterioração da coloração, podendo reduzir significativamente a vida útil da carne no varejo.

Ao se avaliar os efeitos do congelamento e descongelamento na qualidade da carne, também é importante observar as diferenças oriundas de fatores como localização anatômica do músculo, raça e espécie animal. O genótipo animal é um fator que merece atenção, uma vez que, segundo Mancini and Hunt (2005), existem poucos estudos que o relaciona como fator de influência sobre a coloração. No processo de maturação, a raça do animal tem importante efeito na maciez da carne. No Brasil, estima-se que 80% do rebanho é composto por animais de raças zebuínas, destacando-se o Nelore com 90% desta parcela (ABIEC, 2014), mas raças taurinas, como o Aberdeen Angus, vêm aumentando no país, principalmente na região Sul, onde baixas temperaturas e pastagens com maior valor nutritivo permitem a adaptação destes animais. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da maturação da carne após o armazenamento congelado sobre a coloração do músculo *Longissimus thoracis* bovino de animais das raças Aberdeen Angus e Nelore.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram submetidos à apreciação e aprovados pela Comissão de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade Federal

de Lavras (UFLA) antes do início do experimento. Os animais foram criados nas dependências do Departamento de Zootecnia da UFLA e o experimento conduzido no Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes) do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA.

2.1 Animais e preparo das amostras

Foram utilizados 34 bovinos machos inteiros, sendo 17 da raça Nelore (*Bos indicus*) e 17 da raça Aberdeen Angus (*Bos taurus*), terminados em confinamento (dieta composta de silagem de milho e concentrado: grão moído de milho, farelo de soja e mistura mineral) por 84 dias e abatidos com idade média de 20 meses e peso médio de 492 ± 61 kg.

Os animais foram abatidos por concussão cerebral e sangrados por venissecção da jugular e carótida, seguindo práticas de bem estar e abate regulamentadas pela legislação brasileira. As carcaças foram penduradas pelo obturador foramen no osso pélvico e mantidas em câmara fria (4°C) por 24 horas. Após refrigeração o contrafilé (*M. Longissimus thoracis*) direito foi removido, a partir da 6ª vértebra torácica, sendo obtidos 12 bifés de 2,5 cm de espessura que foram sequencialmente enumerados e distribuídos nos tratamentos da seguinte forma (Figura 1): os bifés # 1, 4, 7 e 10 foram destinados ao tratamento de maturação comercial (controle); e os bifés # 3, 6, 9 e 12 foram destinados ao tratamento por congelamento prévio à maturação (congelado). Os bifés 2, 5, 8 e 11 foram usados para medida do pH, sendo observado um valor médio ($\text{pH} = 5,65 \pm 0,09$) aceitável para a carne bovina.

Os bifés de cada tratamento foram identificados, acondicionados a vácuo (embaladora modelo BS420, R. Baião, Brasil), em embalagens de náilon-polietileno, e distribuídas aleatoriamente nos tempos 0 (24 horas *post mortem*), 7, 14 e 21 dias de maturação. As amostras destinadas à maturação convencional

(controle) foram armazenadas sob refrigeração ($1\pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$), em câmara climática (modelo EL202, EletroLab, Brasil). As amostras destinadas ao congelamento prévio foram congeladas e armazenadas em freezer convencional ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) por um período de 40 dias, sendo em seguida descongeladas (a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 24 horas e maturadas nos mesmos períodos.

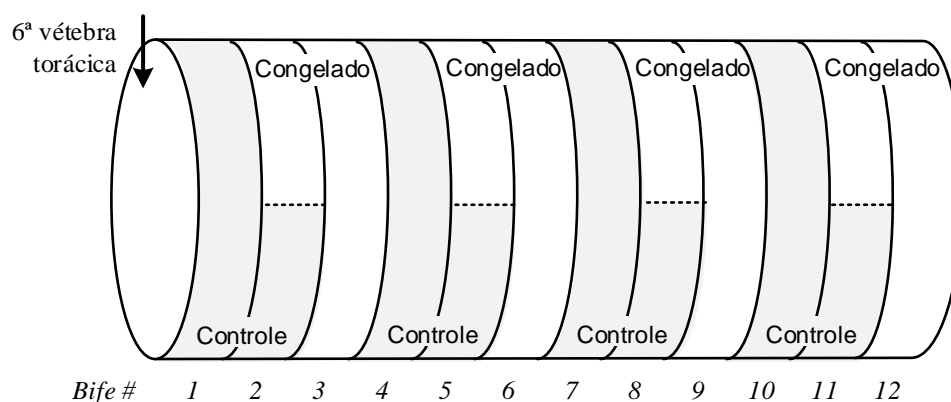


Figura 1 Descrição anatômica da divisão dos bifes de *L. thoracis* nos dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a $1\text{ }^{\circ}\text{C}$; e Congelado = amostras congeladas ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 40 dias, descongeladas ($4\text{ }^{\circ}\text{C}/24\text{h}$) e maturadas a $1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.2 Avaliação da cor instrumental

A determinação das formas químicas da mioglobina e dos parâmetros de cor instrumental (CIELAB) das amostras em cada tempo de maturação foi conduzida utilizando um colorímetro espectrofotométrico CM-700 (KônicMinoltaSensing Inc., Osaka, Japão), com porta de abertura de 30 mm, iluminante A e ângulo de 10° para o observador. O aparelho foi calibrado para fazer a leitura duas vezes, utilizando o modo “luz especular incluída” (SCI) e o modo “luz especular excluída” (SCE). As amostras foram expostas ao ar

atmosférico por 30 minutos para oxigenação (*blooming*) e as curvas de reflectância entre 400 a 730 nm (intervalo de 10 nm) obtidas. Cinco medições que representaram a totalidade da superfície foram retiradas de cada amostra.

As proporções das formas químicas da mioglobina foram estimadas pelo método matemático de Krzywicki (1979). Os valores intermediários (473, 525 e 572 nm) de reflectância obtidos no modo SCI foram determinados por interpolação linear e o conteúdo relativo dos pigmentos heme, expressos como oximioglobina (O₂Mb), deoximioglobina (Mb⁺) e metamioglobina (MMb), calculados.

A partir das leituras conduzidas no modo SCE, os índices luminosidade (L*), índice de vermelho (a*) e índice de amarelo (b*) foram obtidos. A saturação (C*) e o ângulo de tonalidade (h*) também foram determinados (Ramos & Gomide, 2007): $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$; e $h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*)$.

2.3 Análise estatística

Os tratamentos foram dispostos em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcelas subdivididas, com fatorial 2 (Aberdeen Angus x Nelore) x 2 (Controle x Congelado) na parcela. Quando pertinente, os coeficientes de correlação e o teste de média de Tukey foram avaliados. Todas as análises foram conduzidas no programa SAS® System for Windows™, versão 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, SC), considerando um nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Formas químicas da mioglobina

Foi observado efeito triplo (raça x tratamento x tempo de maturação) significativo ($P < 0,05$) para todas as formas químicas da mioglobina na superfície das carnes (Tabela 1). Enquanto que no sistema de maturação convencional (controle) o percentual de oximioglobina (%O₂Mb) aumentou de forma semelhante na carne de animais Angus e Nelore, nas carnes que sofreram congelamento prévio à maturação o %O₂Mb decresceu a partir do sétimo dia, sendo este decréscimo mais acentuado nas carnes de animais Nelores (Figura 2).

Tabela 1 Efeito da raça (R) e do tipo (M) e tempo (T) de maturação nas formas químicas da mioglobina de músculos *L. thoracis* bovinos

		%Mb ⁺	%O ₂ Mb	%MMb
Raça (R)	Nelore	11,80±8,97	65,72±12,78	22,5±10,48
	Angus	9,86±7,54	68,75±9,26	21,4±7,97
Tipo de maturação (M)	Controle	13,32±9,82	70,44±9,70	16,24±2,68
	Congelado	8,34±5,48	64,03±12,01	27,67±10,05
Tempo de maturação, dias (T)	0	18,60±11,42	63,59±9,64	17,81±3,50
	7	8,09±6,31	72,28±6,05	19,63±5,02
	14	8,31±4,33	67,51±11,67	24,26±10,52
	21	8,34±13,15	65,55±14,26	26,11±12,52
Pr > F ¹	R	0,0300	0,0149	0,2294
	M	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	RxM	0,6223	0,3071	0,0794
	T	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	TxR	0,9880	0,1431	0,0314
	TxM	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	TxRxM	0,0081	0,0002	0,0257

%Mb⁺ = deoximioglobina; %O₂Mb = oximioglobina; e MMb = metamioglobina.

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

O aumento inicial do %O₂Mb no processo de maturação convencional pode ser justificado por uma redução na taxa de consumo de oxigênio (TCO). A

TCO está relacionada com a respiração mitocondrial residual após o período *post mortem* e com a profundidade de penetração do oxigênio na superfície exposta do músculo, sendo reconhecida como outra importante característica que influencia a coloração da carne (McKenna et al., 2005). O músculo como carne continua a respirar depois do abate, de forma que o oxigênio molecular continua a ser utilizado no final da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial. Este sistema respiratório compete com a mioglobina pelo oxigênio atmosférico que se difunde para o interior da carne (Lanari & Cassens, 1991). O resultado líquido da difusão e do consumo de oxigênio pela mitocôndria determina o gradiente da concentração de oxigênio do ar para o interior do corte de carne (O'Keeffe & Hood, 1982).

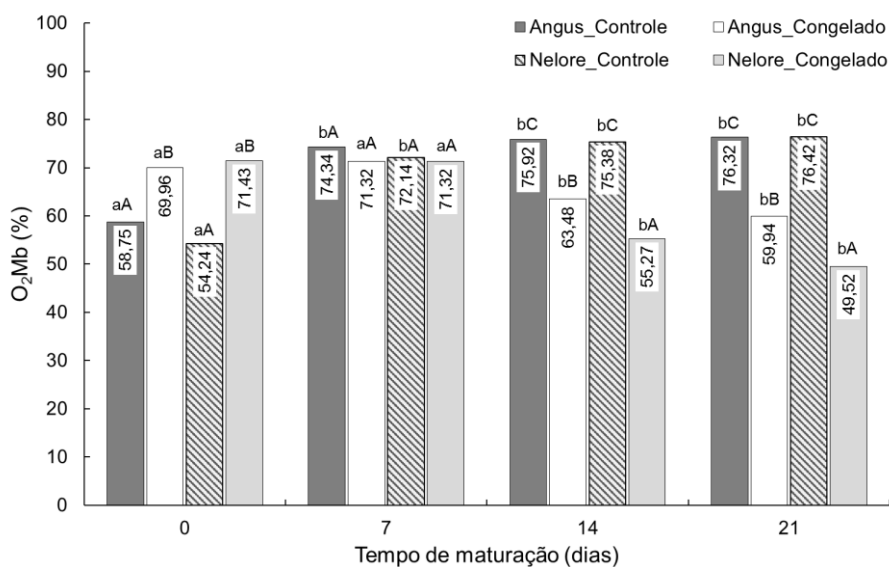


Figura 2 Proporção de oximioglobina (O_2Mb) em músculos *L. thoracis* de animais Nelore e Angus em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (ab) para o tempo de maturação e maiúsculas (ABC) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Assim, no tempo zero a carne recém abatida (24 h *post mortem*) apresenta uma grande TCO, o que resulta em uma menor penetração do oxigênio no interior da carne, fazendo com que a O₂Mb seja formada em uma pequena profundidade. Com o tempo de maturação *post mortem* a TCO diminui, devido ao esgotamento de substratos e coenzimas e pela degradação das enzimas envolvidas na respiração mitocondrial (Hood, 1980; Madhavi & Carpenter, 1993; O'Keeffe & Hood, 1982), favorecendo a penetração de oxigênio e justificando a maior formação da O₂Mb nas amostras controle a partir do 7º dia de estocagem. Já nas amostras congeladas, a %O₂Mb no tempo zero foi maior ($P < 0,05$) do que nas amostras controle, possivelmente devido à inativação das enzimas envolvidas na respiração mitocondrial, o que reduziria a TCO e, conseqüentemente, favoreceria a penetração de oxigênio. Phung, Sælid, Egelanddal, Volden, and Slinde (2011) reportaram que a TCO de mitocôndrias isoladas de músculos suínos reduz com o congelamento e descongelamento quando os valores de pH são menores que 6,0. Uma menor TCO das amostras congeladas no início da maturação é reforçado pelos menores valores de deoximioglobina (Mb⁺) observados nestas amostras em comparação com as amostras controle (Figura 3).

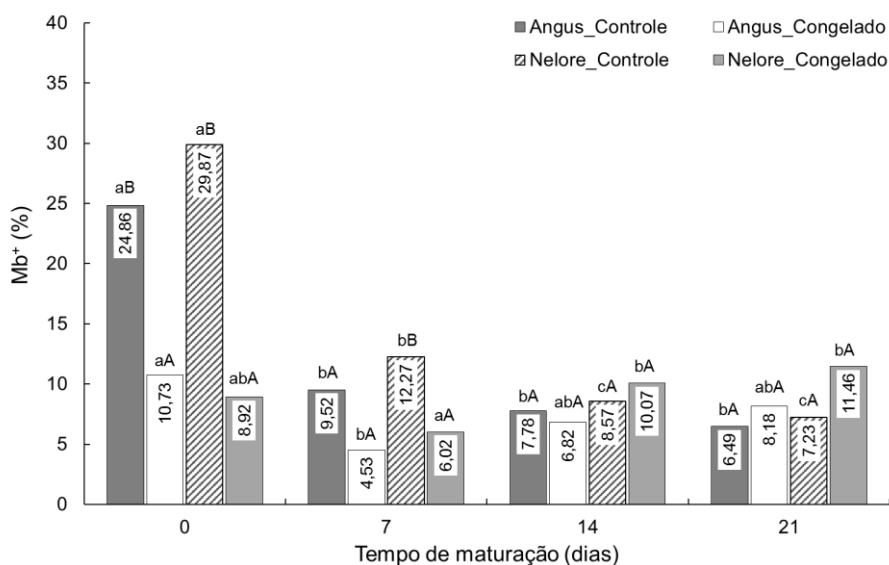


Figura 3 Proporção de deoximioglobina (Mb^+) em músculos *L. thoracis* de animais Nelore e Angus em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (abc) para o tempo de maturação e maiúsculas (ABC) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

A partir do 7º dia de maturação, os níveis de O_2Mb e de Mb^+ nas amostras submetidas à maturação convencional mantiveram-se constantes. Mesmo comportamento foi observado por Vitale et al. (2014), que relataram um aumento no teor de O_2Mb em músculos *L. dorsi* bovinos nos primeiros 5 dias de maturação a vácuo (4 °C) e subsequente manutenção durante os 25 dias totais de estocagem. Entretanto, embora os níveis iniciais de O_2Mb nas amostras congeladas ($70,70 \pm 7,57\%$) fossem maiores ($P < 0,05$) do que nas amostras controle ($56,50 \pm 4,78\%$), estes não se mantiveram durante todo o período de maturação. Nestas amostras, os níveis de O_2Mb caíram a partir do 7º dia e condiz com o concomitante acúmulo do pigmento de metamioglobina (MMb)

observado no mesmo período (Figura 4). Isto corrobora as observações de outros trabalhos (Ben Abdallah et al., 1999; Chu, Huffman, Trout, & Egbert, 1987; Jeong et al., 2011; Lanari et al., 1990; Lanari & Zaritzky, 1991) em que o congelamento provocou aumento no percentual de MMb, contribuindo para uma rápida deterioração na cor da carne bovina.

Tem sido reportado que as grandes diferenças na temperatura durante o processo de congelamento e descongelamento estimula a oxidação lipídica e acelera a descoloração da carne (Akamittath, Brekke, & Schanus, 1990; Farouk & Swan, 1998; Moore & Young, 1991). Chu et al. (1987) propuseram que o rápido aumento de MMb em amostras estocadas sob congelamento pode ser explicado pela formação de cristais de gelo durante a fase de transição entre o congelamento e descongelamento da carne a $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Segundo estes autores, é possível que os danos celulares e de compartimentos intracelulares sofridos a partir da ruptura física provocada pelos cristais de gelo, durante o processo de congelamento/descongelamento das carnes, propiciem um maior contato da mioglobina e de lipídeos com substâncias catalisadoras da oxidação. Existe uma inter-relação entre a oxidação da mioglobina e a oxidação lipídica (Faustman, Sun, Mancini, & Suman, 2010; Mancini & Hunt, 2005), sendo a instabilidade da cor da carne atribuída ao decréscimo na estabilidade das formas redox da mioglobina frente a produtos secundários (alfa e beta aldeídos) da oxidação lipídica (Faustman, Liebler, McClure, & Sun, 1999; Lynch & Faustman, 2000).

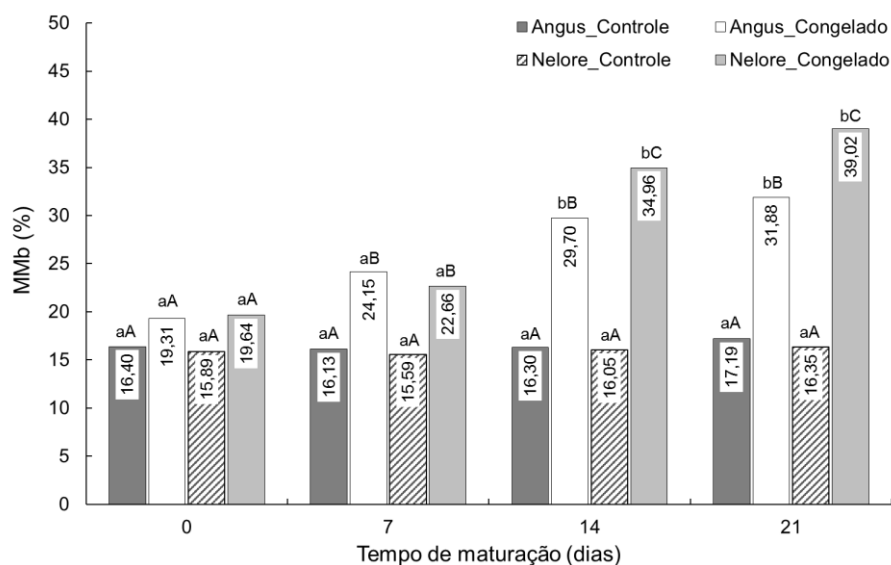


Figura 4 Proporção de metamioglobina (MMb) em músculos *L. thoracis* de animais Nelore e Angus em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1°C. Letras iguais, minúsculas (ab) para o tempo de maturação e maiúsculas (ABC) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Além da possibilidade de maior interação com compostos pró-oxidantes, a oxidação da mioglobina também pode ser atribuída à desnaturação da molécula devido a um aumento na concentração de soluto intracelular (Fennema, 1996; Lawrie, 2006), oriunda do processo de congelamento e descongelamento da carne. Esta desnaturação tem sido reforçada pela observação da presença de mioglobina no exsudado liberado da carne após descongelamento (Añón & Calvelo, 1980). Segundo Ben Abdallah et al. (1999), a desnaturação da molécula de proteína do pigmento de mioglobina que ocorre no processo de descongelamento das carnes leva a um aumento da susceptibilidade da mioglobina à auto-oxidação, o que explica a rápida descoloração observada em

carnes descongeladas. Estes autores também sugerem que o congelamento diminui a atividade redutora de MMb (MRA) da carne, contribuindo para um maior acúmulo de MMb na superfície. Acredita-se que a MRA na carne ocorre principalmente pela ação de um sistema de enzimas redutoras, NADH dependentes, presentes no músculo (Arihara, Cassens, Greaser, Luchansky, & Mozdziak, 1995; Mancini & Hunt, 2005) e que são capazes de reduzir a forma férrica MMb da mioglobina à forma ferrosa Mb⁺. A manutenção da forma ferrosa é extremamente importante para a oxigenação da carne (*blooming*) quando exposta ao oxigênio.

Jeong et al. (2011), no entanto, não observaram diferenças significativas na atividade de MRA de músculos *Semimembranosus* bovinos submetidos ao congelamento e descongelamento e maturados por 7 dias a 4 °C quando comparado com as amostras controle. Estes autores, no entanto, reportaram uma redução significativa na atividade de MRA durante a maturação, ocasionando uma redução no percentual de O₂Mb e aumento de MMb em todos os tratamentos. No presente experimento o aumento da MMb foi observado apenas nas amostras congeladas, sendo que os níveis de MMb das amostras controle permaneceram baixos (~15%) e essencialmente constantes (P > 0,05) durante toda a maturação (Figura 4). Estas diferenças podem ser, no entanto, devido ao tipo de músculo analisado, uma vez que a taxa de descoloração da carne é músculo dependente (McKenna et al., 2005; O'Keeffe & Hood, 1982). Segundo McKenna et al. (2005), em bovinos, músculos *Semimembranosus* apresentam uma menor estabilidade e menores valores de MRA quando comparado com o músculo *Longissimus thoracis*.

A deterioração da cor com o armazenamento refrigerado tem sido atribuída à perda da MRA na carne (Ben Abdallah et al., 1999; Bevilacqua & Zaritzky, 1986; Jeong et al., 2011; Madhavi & Carpenter, 1993). Outros trabalhos, no entanto, reportaram um aumento significativo nos valores de MRA

(Echevarne, Renerre, & Labas, 1990; Feldhusen, Warnatz, Erdmann, & Wenzel, 1995) ou não observaram mudanças significativas (Lanari & Cassens, 1991) com o armazenamento refrigerado de carnes bovinas. Entretanto, há evidências de que a redução da MMb também possa ocorrer por via não-enzimática, diretamente pela ação de cofatores como NADH e NADPH (Bekhit & Faustman, 2005; Renerre, 1990). Feldhusen et al. (1995) e Bekhit, Geesink, Ilian, Morton, and Bickerstaffe (2003) sugeriram que a quantidade de NADH presente na carne tem maior participação na estabilidade da cor do que o sistema MRA. Assim, o rápido acúmulo de MMb durante a maturação observado apenas nas amostras congeladas pode ser devido ao fato da MMb formada não ser novamente reduzida à mioglobina, porque os produtos intermediários, especialmente o NADH, não são mais formados (O'Keeffe & Hood, 1982; Renerre & Labas, 1987). Além disso, a menor estabilidade de cor da carne congelada (maior acúmulo de MMb com o tempo) também pode ser devido à perdas de NADH no músculo ocasionadas pelo congelamento (Ben Abdallah et al., 1999; Jeong et al., 2011). O congelamento e descongelamento da carne danifica a integridade estrutural da membrana celular, devido à formação de cristais de gelo (Leygonie et al., 2012), liberando a enzima β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase (HADH) da mitocôndria no sarcoplasma (Chen, Yang, & Guo, 1988; Ramos, Gomide, Ramos, & Peternelli, 2004), que converte o acetoacetyl-CoA em hidroxibutiril-CoA pela oxidação do $\text{NADH} + \text{H}^+$ a NAD^+ . Desta forma, o cofator NADH não estaria mais disponível para redução da MMb a mioglobina.

Entre as raças, a principal consideração é a menor estabilidade apresentada pela carne de animais Nelore frente ao congelamento, acumulando maiores proporções de MMb nos períodos finais da maturação. Considerando que os consumidores rejeitam a compra da carne quando o teor de MMb atinge valores próximos a 40% do total das formas químicas da mioglobina na

superfície (Greene, Hsin, & Zipser, 1971), uma coloração negativa poderia ser percebida nas carnes congeladas de Nelore no 21º dia de maturação. Esta menor estabilidade da cor da carne de Nelores pode estar associado a uma maior susceptibilidade à oxidação lipídica, devido a maior proporção de ácidos graxos poliinsaturados (AGP) observados nas gorduras intramusculares (Bressan, Rossato, et al., 2011) destes animais quando comparado a animais *Bos taurus* criados nas mesmas condições. O aumento do grau de insaturação dos lipídeos aumenta a sua predisposição à oxidação (Morrissey, Sheehy, Galvin, Kerry, & Buckley, 1998), o que associado aos danos celulares durante o processo de congelamento/descongelamento das carnes, provavelmente favoreceu a oxidação da mioglobina durante o armazenamento, conforme discutido anteriormente.

3.3 Cor instrumental

Todos os índices de cor foram afetados pelo congelamento e pela raça (Tabela 2). Foi verificado efeito significativo ($P < 0,05$) da interação tratamento x tempo de maturação para a luminosidade (L^*), índice de vermelho (a^*), índice de amarelo (b^*) e saturação (C^*) das carnes, enquanto a interação tratamento x raça foi significativa ($P < 0,05$) apenas para o índice a^* e o ângulo de tonalidade (h^*).

O congelamento prévio à maturação afetou significativamente ($P < 0,05$) a luminosidade (L^*) das carnes, que se apresentaram mais escuras (menores valores de L^*) no tempo zero do que as amostras controle (Figura 5). Carnes de cordeiros (Kim, Frandsen, & Rosenvold, 2011; Moore & Young, 1991), avestruz (Leygonie, Britz, & Hoffman, 2012) e bovinos (Vieira, Diaz, Martínez, &

García-Cachán, 2009) submetidas ao congelamento e descongelamento têm sido descritas como mais escuras do que as não congeladas. Jeong et al. (2011), avaliando o efeito do congelamento sobre amostras de músculos *Semimembranosus* maturados por até 7 dias, observaram menores valores na luminosidade das amostras submetidas a dois ciclos de congelamento/descongelamento quando comparadas ao controle.

Tabela 2 Efeito da raça (R) e do tipo (M) e tempo (T) de maturação nos índices de cor de músculos *L. thoracis* bovinos

		L*	a*	b*	C*	h*
Raça (R)	Nelore	49,02±2,54 ^a	13,41±2,75	10,98±2,45 ^a	17,37±3,50 ^a	39,31±3,94
	Angus	48,34±2,38 ^b	14,75±2,49	11,52±2,40 ^b	18,75±3,31 ^b	37,87±3,85
Tipo de maturação (M)	Controle	49,93±1,47	13,91±1,85	10,21±1,45	17,26±2,33	36,27±1,10
	Congelado	47,43±2,66	14,26±3,35	12,29±2,77	18,87±4,18	40,91±3,80
Tempo de maturação, dias (T)	0	47,33±2,93	14,75±3,24	11,78±3,25	18,91±4,46	38,23±3,22
	7	48,40±2,44	14,82±2,34	11,84±2,52	19,00±3,28	38,41±3,14
	14	49,19±2,08	13,62±2,36	10,89±2,06	17,47±2,90	38,70±3,99
	21	49,80±1,61	13,15±2,45	10,51±1,25	16,87±2,50	39,02±4,11
Pr>F ¹	R	0,0205	<0,0001	0,0173	0,0003	<0,0001
	M	<0,0001	0,2633	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	RxM	0,8852	0,0386	0,2352	0,0786	0,0131
	T	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,3469
	TxR	0,7156	0,9127	0,8864	0,8953	0,8597
	TxM	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,4841
	TxRxM	0,6257	0,7627	0,6596	0,6993	0,9535

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

^{a-b} Médias seguidas de letras diferentes na coluna, para cada efeito avaliado, diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

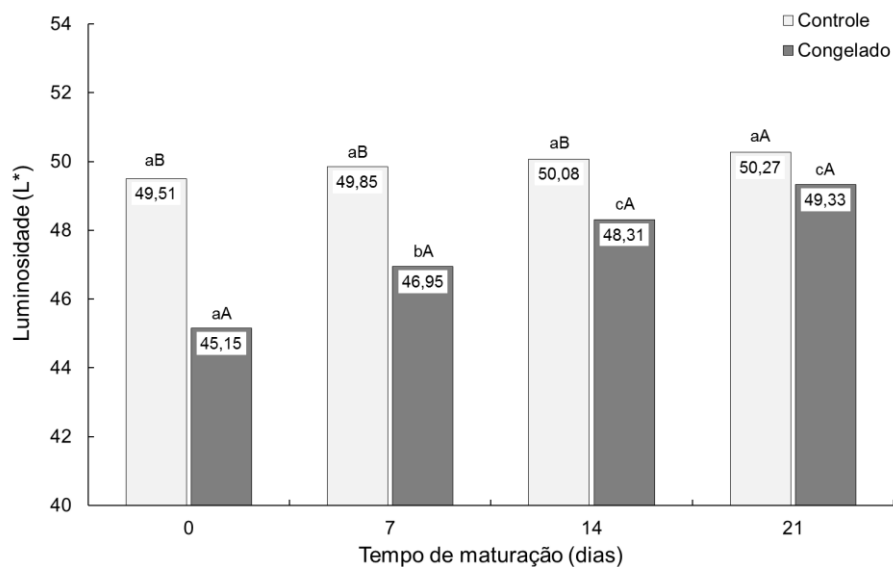


Figura 5 Valores médios de luminosidade (L^*) de músculos *L. thoracis* bovinos em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (abc) para o tempo de maturação e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

A formação de cristais de gelo na carne durante o congelamento induz a uma série de alterações que podem afetar a qualidade da carne, em especial a sua coloração. A carne é um sistema multicomponente composto por espaços intra- e extracelular e, devido às diferenças no conteúdo de solutos, a formação de cristais de gelo (nucleação da água) durante o congelamento lento inicia nos espaços extracelulares (Fontes & Ramos, 2008). Assim, o meio intracelular é deficiente em sítios de nucleação, favorecendo a migração gradual da água para o meio extracelular, que passa a apresentar sítios com grandes cristais de gelo, em contraste com o aumento na concentração de solutos do meio intracelular (Fontes & Ramos, 2008; Zaritzky, 2000). Durante o descongelamento, toda a

água presente no meio extracelular não pode ser reabsorvida nas regiões originais, sendo uma parte drenada para fora do músculo na forma de purga (Zaritzky, 2000).

É provável que a grande concentração de solutos, especialmente de pigmentos heme, no meio intracelular ocasionada pelo congelamento tenham contribuído para uma maior absorção da luz e, desta forma, seja responsável pela menor luminosidade observada nas carnes congeladas. Com o armazenamento refrigerado parte da água extracelular foi realocada no meio intracelular e os efeitos da concentração de pigmentos podem ter sido gradativamente superados pelos efeitos da desnaturação proteica e da oxidação lipídica induzidos pelo congelamento. Ambos os fatores favorecem o aumento na dispersão da luz (Farouk & Swan, 1998; Farouk & Wieliczko, 2003) e contribuem para a auto-oxidação da mioglobina a MMb (Renerre, 1990; Seideman, Cross, Smith, & Durland, 1984). O aumento ($P < 0,05$) da luminosidade da carne congelada durante a maturação é condizente com o aumento observado (Figura 4) na proporção de MMb nestas carnes. Embora tenha sido observado uma baixa correlação negativa ($r = -0,17$; $P = 0,0063$) entre os valores de L^* e MMb, quando se avalia apenas as amostras congeladas, uma correlação maior e positiva ($r = 0,32$; $P < 0,0001$) é observada.

Enquanto nas amostras controle a luminosidade não se alterou ($P > 0,05$) durante todo o período de armazenamento, os valores de L^* das amostras congeladas aumentaram ($P < 0,05$) até o 21º dia de maturação (Figura 5), quando a diferença para as amostras controle não foi mais significativa ($P > 0,05$). Um ligeiro aumento nos valores de L^* com o período de maturação tem sido reportado em vários estudos (Boakye & Mittal, 1996; Farouk, Wiklund, Stuart, & Dobbie, 2009; Hou et al., 2014; Lagerstedt et al., 2011; Vitale et al., 2014). Alguns autores (Faustman & Cassens, 1990; Kim et al., 2011) sugeriram que este aumento é devido a uma maior quantidade de água livre no meio

intracelular oriundo do aumento da capacidade de retenção de água (CRA) da carne com a maturação. A melhoria da CRA durante a maturação tem sido atribuída à degradação de proteínas citoesqueléticas, que promovem ligações costaméricas entre miofibrilas e entre estas e o sarcolema, levando a uma menor redução do diâmetro da fibra *post mortem*, e permitindo uma maior disponibilidade de espaço para acomodação das moléculas de água intracelular (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005; Pearce, Rosenvold, Andersen, & Hopkins, 2011). Assim, maiores quantidades de água livre no meio intracelular seria o responsável por um aumento no coeficiente de dispersão da luz na carne, resultando em maiores valores de L^* e, conseqüentemente, em uma aparência mais pálida.

Segundo Goñi, Indurain, Hernandez, and Beriain (2008) e Lee, Apple, Yancey, Sawyer, and Johnson (2008), a mudança da forma química de Mb^+ para O_2Mb durante a oxigenação de músculos *L. dorsi* bovinos implica em maiores valores de L^* . Desta forma, também tem sido sugerido (Boakye & Mittal, 1996; Kim et al., 2011; Lagerstedt et al., 2011; Vitale et al., 2014) que maiores valores de L^* observados com o período de maturação estão associados à redução na atividade respiratória mitocondrial, o que confere uma maior oxigenação da molécula de mioglobina, formando maiores proporções de O_2Mb . Isto, no entanto, não condiz com nossos resultados, uma vez que o comportamento dos valores de L^* com o período de maturação foi o inverso do comportamento dos teores de O_2Mb nas carnes descongeladas (Figura 2). E, apesar das carnes descongeladas apresentarem maiores proporções de O_2Mb no primeiro dia e valores iguais no 7º dia de maturação, os valores de L^* foram sempre inferiores às amostras controle neste período. Isto explica a falta de correlação ($r = 0,04$; $P = 0,5191$) observada entre os valores de L^* e O_2Mb neste experimento. Entretanto, esta mudança de comportamento da luminosidade devido ao congelamento/descongelamento pode ser devido à introdução de outros fatores

que interferem na coloração da carne. Isto fica evidente quando se avalia a relação entre L^* e O_2Mb para os tratamentos isolados, sendo observado uma correlação positiva ($r = 0,39$; $P = 0,0001$) para as amostras controle e negativa ($r = -0,35$; $P < 0,0001$) para as amostra descongeladas.

Quanto à raça, os valores de luminosidade foram maiores ($P < 0,05$) para carnes de animais Nelore ($49,02 \pm 2,54$) do que para animais Aberdeen Angus ($48,34 \pm 2,39$). Isto condiz com o maior acúmulo de MMb pela carne de animais da raça Nelore frente ao congelamento (Figura 4). Bressan, Rodrigues, Rossato, Ramos, and Gama (2011) também observaram maiores valores de L^* em animais *Bos indicus* quando comparado a animais *Bos taurus* terminados em confinamento. Estes autores sugeriram que esta diferença poderia estar associada a uma maior susceptibilidade à oxidação lipídica da carne de animais zebuínos, devido a maior proporção de ácidos graxos poliinsaturados (AGP) observados nas gorduras intramusculares destes animais em relação a animais taurinos.

Tanto o tempo de maturação como o tratamento (congelamento prévio à maturação) afetaram significativamente ($P < 0,05$) os índices de vermelho (a^* ; Figura 6) e de amarelo (b^* ; Figura 7) na superfície das carnes. Nas amostras controle, ambos os índices de cromaticidade (a^* e b^*) aumentaram no 7º dia de armazenamento e, então, permaneceram constantes até o fim da maturação. Estas mudanças são claramente devido à maior oxigenação da molécula de mioglobina, uma vez que o comportamento condiz com o aumento na proporção de O_2Mb evidenciado na Figura 2 e que foi atribuído à redução da TCO durante a maturação *post mortem* (Hood, 1980; O'Keeffe & Hood, 1982), conforme anteriormente discutido. Altas correlações entre os valores de O_2Mb e os índices a^* ($r = 0,68$; $P < 0,0001$) e b^* ($r = 0,45$; $P < 0,0001$) foram observadas. Aumento nos valores de a^* e b^* de músculos *L. dorsi* bovinos com a maturação são consistentes com o reportado em outros trabalhos (Boakye & Mittal, 1996; Farouk et al., 2009; Hou et al., 2014; Vitale et al., 2014).

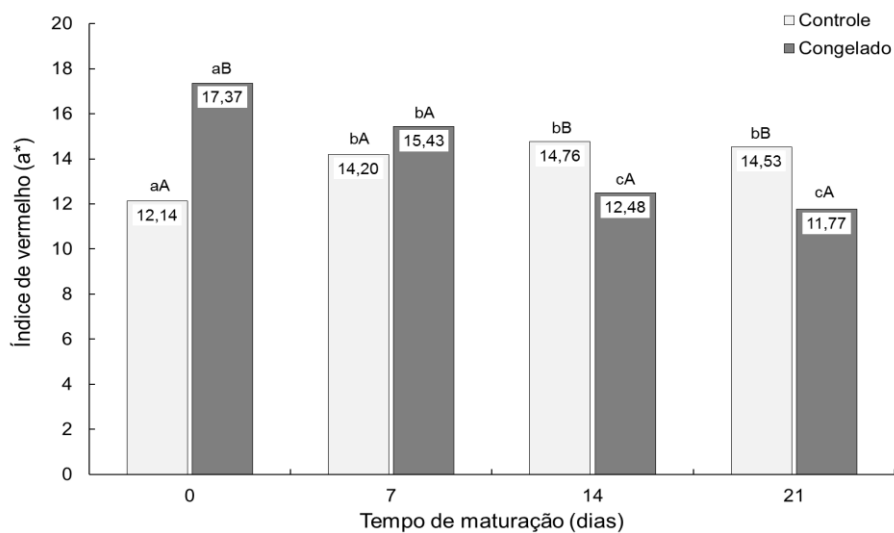


Figura 6 Valores médios de índice de vermelho (a*) de músculos *L. thoracis* bovinos em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (abc) para o tempo de maturação e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Da mesma forma que evidenciado para as formas químicas da mioglobina, o congelamento alterou os índices de cromaticidade a* e b* durante a maturação. No tempo zero estes índices foram favorecidos, provavelmente devido à menor TCO oriunda do congelamento, o que condiz com os maiores valores de O₂Mb observados nas amostras congeladas quando comparadas às amostras controles (Figura 2). Entretanto, durante o armazenamento refrigerado, os índices a* e b* foram gradativamente deteriorando, devido à auto-oxidação da mioglobina à MMb (Figura 4), induzida pelos efeitos do congelamento sobre a MRA, desnaturação proteica e, ou, oxidação lipídica. Esta degradação dos índices a* e b* não foi observada nas amostras controle, o que condiz com a manutenção dos baixos valores de MMb nestas amostras durante todo o período

de maturação. Na ausência de oxigênio (embalagem a vácuo) e a baixas temperaturas (1 °C) o armazenamento pode ter preservado a MRA do músculo e reduzido a oxidação lipídica (Vitale et al., 2014) nas amostras controle, ambos contribuindo para a oxigenação da carne maturada quando exposta ao oxigênio. Devido à grande diferença nos valores de MMB entre os tratamentos, a correlação entre esta forma química e o índice a* foi relativamente baixa ($r = -0,39$; $P < 0,0001$), enquanto para o índice b* não foi significativa ($r = 0,01$; $P = 0,9714$). Entretanto, considerando apenas as amostras congeladas, as correlações entre a MMB e os índices a* ($r = -0,68$; $P < 0,0001$) e b* ($r = -0,43$; $P < 0,0001$) foram mais fortes.

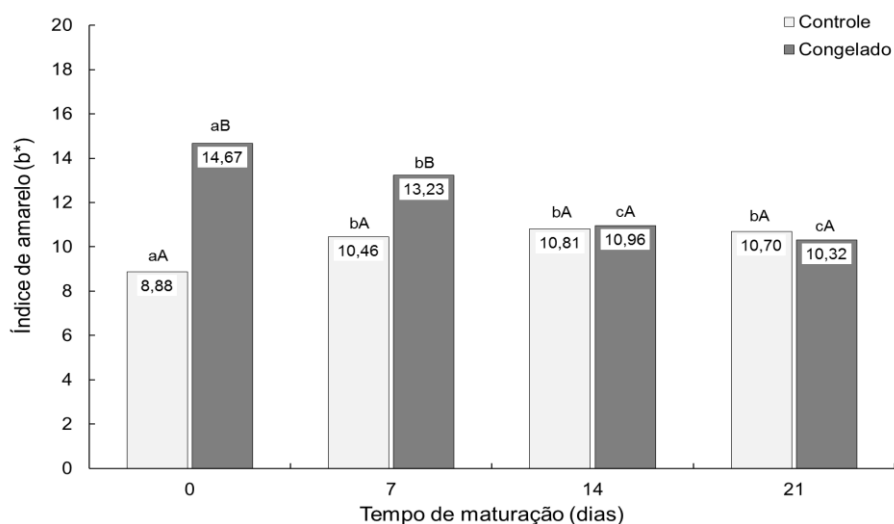


Figura 7 Valores médios de índice de amarelo (b*) de músculos *L. thoracis* bovinos em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (abc) para o tempo de maturação e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Os efeitos do congelamento na cor instrumental da carne relatados na literatura são variáveis. Vieira et al. (2009) não observaram diferenças nos valores de a^* e b^* de músculos *L. thoracis* maturados (até 10 dias) de bovinos que foram congelados (-20 °C) por 30 dias daqueles que não foram submetidos ao congelamento. Entretanto, estes autores relatam menores valores para a^* e b^* nas amostras maturadas que foram armazenadas congeladas por até 90 dias. Avaliando os efeitos da dieta e teor de gordura em bifes de músculos *Semimembranosus* bovinos reestruturados, Farouk and Wieliczko (2003) observaram que o congelamento (-20 °C) por períodos de 2 a 8 meses aumentou os valores dos índices a^* e b^* . Já Zhang, Farouk, Young, Wieliczko & Podmore (2005) não observaram diferenças nos valores destes índices em amostras de *L. thoracis* moídas de bovinos e congeladas por 1 a 7 meses quando comparadas às amostras controle (não congeladas). Em músculo *L. dorsi* de ovinos, Moore and Young (1991) e Kim et al. (2011) observaram menores valores de a^* e b^* nas amostras congeladas (-20 °C; entre 1 a 9 semanas) quando comparadas às amostras controle. Variáveis como tempo de armazenamento congelado, forma (íntegro ou moído) e tipo de músculo analisado são responsáveis por estas diferenças.

Apesar de poucos trabalhos terem avaliado a cor instrumental da carne bovina maturada após congelamento/descongelamento, estes tem relatado uma degradação nos índices de cor durante a maturação. Jeong et al. (2011), observaram menores valores no índice a^* apenas nas amostras de músculos *Semimembranosus* bovinos que foram congelados (12 h/-65 °C), descongelados (12h/4 °C) e maturados por 7 dias (4 °C) quando comparadas ao controle maturado. Estes autores não observaram diferença significativa nos valores de b^* entre amostras congeladas e controle nos 7 dias de maturação. Bressan, Rodrigues, et al. (2011), analisando a qualidade da carne (*L. dorsi*) de animais *B. indicus* e *B. taurus* criados em diferentes sistemas de terminação (pasto x

confinamento), também observaram uma redução nos índices de a^* e b^* nas amostras de ambos os grupos genéticos após 10 dias de maturação (4 °C). Estes autores mantiveram as carnes congeladas (-20 °C) por 30 dias antes de iniciar a maturação.

O índice de vermelho (a^*) também foi afetado pela raça, mas os efeitos foram dependentes do tratamento (Figura 8). Nas amostras controle, não houve ($P > 0,05$) diferenças nos valores de a^* entre as raças, mas as amostras descongeladas de Angus eram mais vermelhas ($P < 0,05$) do que as amostras de animais Nelore. Além disso, a carne de animais Angus apresentou maiores ($P < 0,05$) valores de b^* ($11,52 \pm 2,40$) do que a carne de animais Nelore ($10,98 \pm 2,45$). Estas diferenças podem estar associadas à menor estabilidade apresentada pela carne de animais Nelore frente ao congelamento, evidenciada pelo maior acúmulo de MMB nos períodos finais da maturação (Figura 3). Segundo King et al. (2010), a genética tem substancial influência sobre a coloração de carnes, sendo que a capacidade de manter a estabilidade da cor aparenta ser mais importante do que a cor inicial. Bressan, Rodrigues, et al. (2011) relataram que, apesar de não haver diferenças nos valores de b^* da carne descongelada de animais *B. taurus* e *B. indicus* no tempo zero (não maturada), maiores valores de b^* foram observados na carne de animais *B. taurus* após um período de maturação de 10 dias. Além disso, estes autores não observaram diferença significativa no índice a^* entre carnes destes animais, seja no tempo zero ou após 10 dias de maturação.

No presente experimento as diferenças na cor das amostras controle com a maturação parecem ser devido apenas à capacidade de oxigenação (*blooming*), enquanto que nas amostras congeladas são oriundas da auto-oxidação da mioglobina. Além disso, pode-se observar um comportamento similar com o tempo de maturação para os índices de cromaticidade a^* e b^* e, portanto, as mudanças na cor da carne são, provavelmente, melhor representadas pelas

coordenadas angulares de saturação (C^*) e tonalidade (h^*). A saturação representa a intensidade de cor e é um bom indicador da oxigenação da carne recém exposta ao ar (Ramos & Gomide, 2007), enquanto que a descoloração da carne é normalmente acompanhada por um aumento nos valores de h^* , sendo este índice especialmente sensível na mensuração da estabilidade da cor de carnes (Chan et al., 1996; Farouk & Swan, 1998). Isto condiz com as fortes correlação entre a O_2Mb e os valores de C^* ($r = 0,61$; $P < 0,0001$) e entre a MMb e o índice h^* ($r = 0,70$; $P < 0,0001$) encontradas neste experimento.

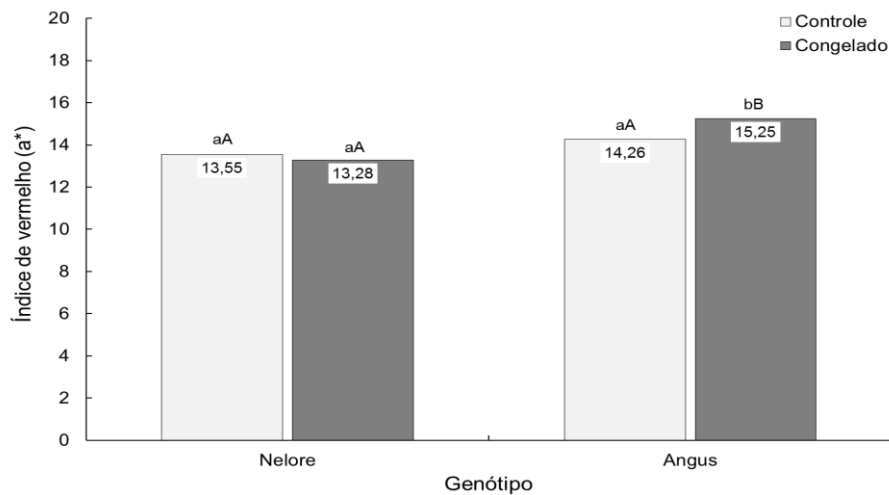


Figura 8 Valores médios de índice de vermelho (a^*) de músculos *L. thoracis* de animais da raça Angus e Nelore em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1°C ; e Congelado = amostras congeladas (-20°C) por 40 dias, descongeladas ($4^\circ\text{C}/24\text{h}$) e maturadas a 1°C . Letras iguais, minúsculas (ab) para a raça e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Enquanto a saturação (C^*) das amostras apresentou um comportamento similar aos observados para os valores de a^* e b^* durante a maturação, aumentando nas amostras controle e reduzindo nas descongeladas (Figura 9), os valores de tonalidade (h^*) não mudaram ($P > 0,05$) com o tempo de estocagem.

Estes resultados condiz com o relatado por Jeong et al. (2011) que, durante um período de maturação de 7 dias, observaram uma redução nos valores de C^* e nenhuma alteração nos valores de h^* em amostras descongeladas de músculos *Semimembranosus* bovinos.

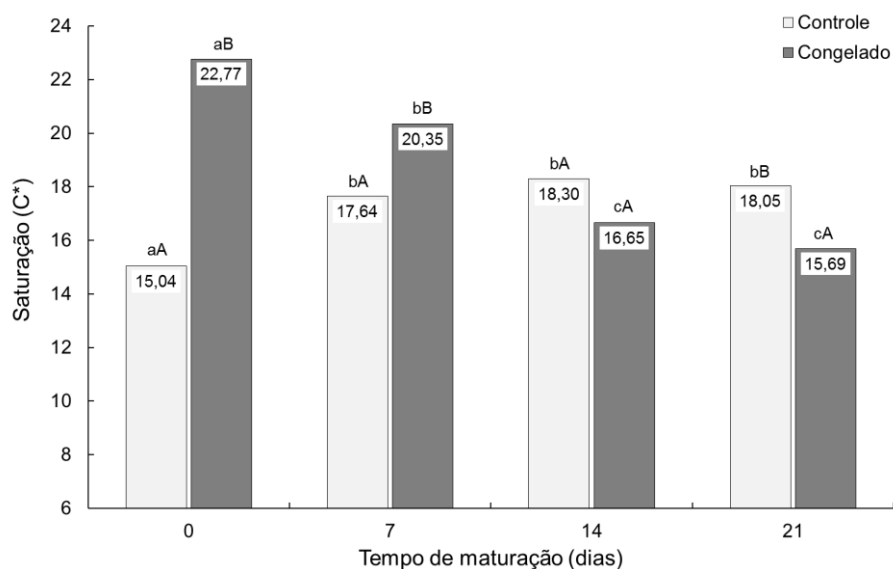


Figura 9 Valores médios de índice de vermelho (a^*) de músculos *L. thoracis* bovinos em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a 1 °C; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C) por 40 dias, descongeladas (4 °C/24h) e maturadas a 1 °C. Letras iguais, minúsculas (ab) para a raça e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

Apesar de apresentar alta correlação com a MMB, os valores de h^* não foram bons indicadores da deterioração da cor da carne durante a maturação, especialmente nas amostras congeladas, onde o acúmulo de MMB foi significativo. Entretanto, o congelamento prévio à maturação alterou a cor final da carnes desde o início do armazenamento, induzindo maiores valores no ângulo de tonalidade (h^*) nas amostras submetidas ao congelamento (Figura

10). Este efeito também foi dependente da raça, não havendo ($P > 0,05$) diferenças nos valores de h^* nas amostras controle de animais Nelore e Angus, mas com as carnes descongeladas de Nelore apresentando-se ($P < 0,05$) com uma tonalidade mais amarelada (maiores valores de h^*) do que as carnes descongeladas de Angus. Maiores valores de h^* nas amostras congeladas e de animais Nelore indicam a baixa estabilidade de cor destes fatores e justificam a alta correlação observada entre h^* e MMb. Além disso, a baixa estabilidade de cor da carne de Nelores também é evidenciada pelos menores ($P < 0,05$) valores de C^* observados ($17,38 \pm 3,50$) quando comparado à carne de animais Angus ($18,75 \pm 3,31$).

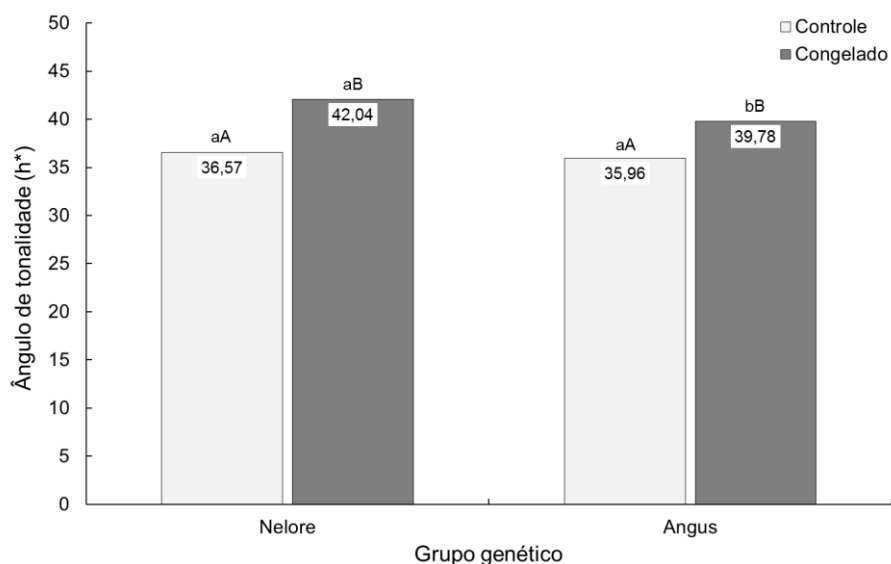


Figura 10 Valores médios do ângulo de tonalidade (h^*) de músculos *L. thoracis* de animais da raça Angus e Nelore em dois tratamentos: Controle = amostras frescas maturadas a $1\text{ }^{\circ}\text{C}$; e Congelado = amostras congeladas ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 40 dias, descongeladas ($4\text{ }^{\circ}\text{C}/24\text{h}$) e maturadas a $1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Letras iguais, minúsculas (ab) para a raça e maiúsculas (AB) para o tratamento, não diferem ($P > 0,05$) entre si.

4 CONCLUSÃO

O congelamento alterou a coloração da carne bovina de ambas as raças, tornando-as mais escuras e com uma tonalidade de vermelho mais intensa nos primeiros dias de maturação. No entanto, o congelamento também induziu a uma maior deposição de metamioglobina na superfície das carnes durante a maturação o que contribuiu para uma rápida deterioração nos índices de cor, que se apresentaram similares às carnes não-congeladas no 14º dia. São necessários estudos que confrontem estas mudanças na cor instrumental com a percepção sensorial por consumidores, de forma a se estabelecer os possíveis impactos do processo na venda da carne no varejo.

5 REFERÊNCIAS

- ABIEC. (2014). Balanço da pecuária brasileira Retrieved May 15, 2014, from <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/>
- Akamittath, J. G., Brekke, C. J., & Schanus, E. G. (1990). Lipid Oxidation and Color Stability in Restructured Meat Systems during Frozen Storage. *Journal of Food Science*, 55(6), 1513-1517. doi: 10.1111/j.1365-2621.1990.tb03557.x
- Añón, M. C., & Calvelo, A. (1980). Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. *Meat Science*, 4(1), 1-14. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(80\)90018-2](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(80)90018-2)
- Arihara, K., Cassens, R. G., Greaser, M. L., Luchansky, J. B., & Mozdziak, P. E. (1995). Localization of metmyoglobin-reducing enzyme (NADH-cytochrome b5 reductase) system components in bovine skeletal muscle. *Meat Science*, 39(2), 205-213. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(94\)P1821-C](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(94)P1821-C)
- Aroeira, C. N. (2014). Effects of frozen-thawed aging on tenderness of beef from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Meat Science*, *Submetido para publicação*.
- Bekhit, A. E. D., & Faustman, C. (2005). Metmyoglobin reducing activity. *Meat Science*, 71(3), 407-439. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.032>

- Bekhit, A. E. D., Geesink, G. H., Ilian, M. A., Morton, J. D., & Bickerstaffe, R. (2003). The effects of natural antioxidants on oxidative processes and metmyoglobin reducing activity in beef patties. *Food Chemistry*, *81*(2), 175-187. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00410-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00410-7)
- Ben Abdallah, M., Marchello, J. A., & Ahmad, H. A. (1999). Effect of Freezing and Microbial Growth on Myoglobin Derivatives of Beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*(10), 4093-4099. doi: 10.1021/jf9809434
- Bevilacqua, A. E., & Zaritzky, N. E. (1986). Rate of pigment modifications in packaged refrigerated beef using reflectance spectrophotometry. *Journal of Food Processing and Preservation*, *10*(1), 1-18. doi: 10.1111/j.1745-4549.1986.tb00001.x
- Boakye, K., & Mittal, G. S. (1996). Changes in colour of beef m. longissimus dorsi muscle during ageing. *Meat Science*, *42*(3), 347-354. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(95\)00025-9](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(95)00025-9)
- Bressan, M. C., Rodrigues, E. C., Rossato, L. V., Ramos, E. M., & Gama, L. T. (2011). Physicochemical properties of meat from *Bos taurus* and *Bos indicus*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *40*, 1250-1259.
- Bressan, M. C., Rossato, L. V., Rodrigues, E. C., Alves, S. P., Bessa, R. J. B., Ramos, E. M., & Gama, L. T. (2011). Genotype × environment interactions for fatty acid profiles in *Bos indicus* and *Bos taurus* finished on pasture or grain. *Journal of Animal Science*, *89*(1), 221-232. doi: 10.2527/jas.2009-2672
- Carpenter, C. E., Cornforth, D. P., & Whittier, D. (2001). Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. *Meat Science*, *57*(4), 359-363.
- Chan, W. K., Hakkarainen, K., Faustman, C., Schaefer, D. M., Scheller, K. K., & Liu, Q. (1996). Dietary vitamin E effect on color stability and sensory assessment of spoilage in three beef muscles. *Meat Science*, *42*(4), 387-399.
- Chen, M.-T., Yang, W.-D., & Guo, S.-L. (1988). Differentiation between fresh beef and thawed frozen beef. *Meat Science*, *24*(3), 223-226. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(88\)90080-0](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(88)90080-0)
- Chu, Y. H., Huffman, D. L., Trout, G. R., & Egbert, W. R. (1987). Color and Color Stability of Frozen Restructured Beef Steaks: Effect of Sodium Chloride, Tripolyphosphate, Nitrogen Atmosphere, and Processing Procedures. *Journal of Food Science*, *52*(4), 869-875. doi: 10.1111/j.1365-2621.1987.tb14230.x
- Cohen, T. (1984). Aging of Frozen Parts of Beef. *Journal of Food Science*, *49*(4), 1174-1177. doi: 10.1111/j.1365-2621.1984.tb10421.x

- Crouse, J. D., & Koohmaraie, M. (1990). Effect of freezing of beef on subsequent postmortem aging and shear force. *Journal of Food Science*, 52(2), 573-574.
- Echevarne, C., Renerre, M., & Labas, R. (1990). Metmyoglobin reductase activity in bovine muscles. *Meat Science*, 27(2), 161-172. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(90\)90063-C](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(90)90063-C)
- Farouk, M. M., & Swan, J. E. (1998). Effect of Muscle Condition Before Freezing and Simulated Chemical Changes During Frozen Storage on the pH and Colour of Beef. *Meat Science*, 50(2), 245-256. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)00036-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00036-9)
- Farouk, M. M., & Wieliczko, K. J. (2003). Effect of diet and fat content on the functional properties of thawed beef. *Meat Science*, 64(4), 451-458. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00214-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00214-0)
- Farouk, M. M., Wiklund, E., Stuart, A., & Dobbie, P. (2009). *Ageing prior to freezing improves the colour of frozen thawed beef and venison*. Paper presented at the 55th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), Copenhagen, Denmark.
- Faustman, C., & Cassens, R. G. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A review. *Journal of Muscle Foods*, 1(3), 217-243. doi: 10.1111/j.1745-4573.1990.tb00366.x
- Faustman, C., Liebler, D. C., McClure, T. D., & Sun, Q. (1999). α,β -Unsaturated Aldehydes Accelerate Oxymyoglobin Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(8), 3140-3144. doi: 10.1021/jf990016c
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R. A., & Suman, S. P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86(1), 86-94. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.025>
- Feldhusen, F., Warnatz, A., Erdmann, R., & Wenzel, S. (1995). Influence of storage time on parameters of colour stability of beef. *Meat Science*, 40(2), 235-243. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(94\)00048-C](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(94)00048-C)
- Fennema, O. R. (1996). *Food Chemistry, Third Edition*: Taylor & Francis.
- Fontes, P. R., & Ramos, E. M. (2008). Conservação de alimentos: térmica e não-térmica. In M. S. R. Bastos (Ed.), *Ferramentas da Ciência e Tecnologia para a Segurança de Alimentos* (Vol. 1, pp. 67-105). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical.
- Goñi, V., Indurain, G., Hernandez, B., & Beriain, M. J. (2008). Measuring muscle color in beef using an instrumental method versus visual color scales. *Journal of Muscle Foods*, 19(2), 209-221. doi: 10.1111/j.1745-4573.2008.00106.x
- Grayson, A. L., King, D. A., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., & Wheeler, T. L. (2014). Freezing and thawing or freezing, thawing, and aging effects

- on beef tenderness. *Journal of Animal Science*, 92(6), 2735-2740. doi: 10.2527/jas.2014-7613
- Greene, B. E., Hsin, I.-M., & Zipsper, M. Y. W. (1971). Retardation of oxidative color changes in raw ground beef. *Journal of Food Science*, 36(6), 940-942. doi: 10.1111/j.1365-2621.1971.tb15564.x
- Hood, D. E. (1980). Factors affecting the rate of metmyoglobin accumulation in pre-packaged beef. *Meat Science*, 4(4), 247-265. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(80\)90026-1](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(80)90026-1)
- Hou, X., Liang, R., Mao, Y., Zhang, Y., Niu, L., Wang, R., . . . Luo, X. (2014). Effect of suspension method and aging time on meat quality of Chinese fattened cattle *M. Longissimus dorsi*. *Meat Science*, 96(1), 640-645. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.08.026
- Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71(1), 194-204. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.022>
- Jeong, J.-Y., Kim, G.-D., Yang, H.-S., & Joo, S.-T. (2011). Effect of freeze-thaw cycles on physicochemical properties and color stability of beef semimembranosus muscle. *Food Research International*, 44(10), 3222-3228. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.08.023>
- Jeremiah, L. E. (2001). Packaging alternatives to deliver fresh meats using short- or long-term distribution. *Food Research International*, 34(9), 749-772. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00096-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00096-5)
- Jeremiah, L. E., & Gibson, L. L. (2001). The influence of packaging and storage time on the retail properties and case-life of retail-ready beef. *Food Research International*, 34(7), 621-631. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00080-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00080-1)
- Kim, Y. H., Frandsen, M., & Rosenvold, K. (2011). Effect of ageing prior to freezing on colour stability of ovine longissimus muscle. *Meat science*, 88(3), 332-337. doi: 10.1016/j.meatsci.2010.12.020
- King, D. A., Shackelford, S. D., Kuehn, L. A., Kemp, C. M., Rodriguez, A. B., Thallman, R. M., & Wheeler, T. L. (2010). Contribution of genetic influences to animal-to-animal variation in myoglobin content and beef lean color stability. *Journal of Animal Science*, 88(3), 1160-1167. doi: 10.2527/jas.2009-2544
- Koohmaraie, M. (1996). Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Science*, 43, Supplement 1(0), 193-201. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(96\)00065-4](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(96)00065-4)
- Koohmaraie, M., Whipple, G., Kretchmar, D. H., Crouse, J. D., & Mersmann, H. J. (1991). Postmortem proteolysis in longissimus muscle from beef, lamb and pork carcasses. *Journal of Animal Science*, 69(2), 617-624.

- Krzywicki, K. (1979). Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. *Meat Science*, 3(1), 1-10. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(79\)90019-6](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(79)90019-6)
- Lagerstedt, Å., Lundström, K., & Lindahl, G. (2011). Influence of vacuum or high-oxygen modified atmosphere packaging on quality of beef *M. longissimus dorsi* steaks after different ageing times. *Meat Science*, 87(2), 101-106. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.08.010>
- Lanari, M. C., Bevilacqua, A. E., & Zaritzky, N. E. (1990). Pigments modifications during freezing and frozen storage of packaged beef. *Journal of Food Process Engineering*, 12(1), 49-66. doi: 10.1111/j.1745-4530.1990.tb00040.x
- Lanari, M. C., & Cassens, R. G. (1991). Mitochondrial Activity and Beef Muscle Color Stability. *Journal of Food Science*, 56(6), 1476-1479. doi: 10.1111/j.1365-2621.1991.tb08619.x
- Lanari, M. C., & Zaritzky, N. E. (1991). Effect of packaging and frozen storage temperature on beef pigments. *International Journal of Food Science & Technology*, 26(6), 629-640. doi: 10.1111/j.1365-2621.1991.tb02008.x
- Lawrie, R. A. (2006). *Lawrie's Meat Science* (7th ed.): Woodhead Publishing.
- Lee, M. S., Apple, J. K., Yancey, J. W. S., Sawyer, J. T., & Johnson, Z. B. (2008). Influence of wet-aging on bloom development in the longissimus thoracis. *Meat Science*, 80(3), 703-707. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.03.013>
- Leygonie, C., Britz, T. J., & Hoffman, L. C. (2012). Meat quality comparison between fresh and frozen/thawed ostrich *M. iliofibularis*. *Meat Science*, 91(3), 364-368. doi: 10.1016/j.meatsci.2012.02.020
- Lindahl, G. (2011). Colour stability of steaks from large beef cuts aged under vacuum or high oxygen modified atmosphere. *Meat Science*, 87(4), 428-435. doi: 10.1016/j.meatsci.2010.10.023
- Lynch, M. P., & Faustman, C. (2000). Effect of Aldehyde Lipid Oxidation Products on Myoglobin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3), 600-604. doi: 10.1021/jf990732e
- Madhavi, D. L., & Carpenter, C. E. (1993). Aging and Processing Affect Color, Metmyoglobin Reductase and Oxygen Consumption of Beef Muscles. *Journal of Food Science*, 58(5), 939-942. doi: 10.1111/j.1365-2621.1993.tb06083.x
- Mancini, R. A., & Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100-121. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003>
- McKenna, D. R., Mies, P. D., Baird, B. E., Pfeiffer, K. D., Ellebracht, J. W., & Savell, J. W. (2005). Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. *Meat Science*, 70(4), 665-682. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.02.016>

- Monsón, F., Sañudo, C., & Sierra, I. (2004). Influence of cattle breed and ageing time on textural meat quality. *Meat Science*, 68(4), 595-602. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.05.011>
- Moore, V. J., & Young, O. A. (1991). The effects of electrical stimulation, thawing, ageing and packaging on the colour and display life of lamb chops. *Meat Science*, 30(2), 131-145. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(91\)90003-9](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(91)90003-9)
- Morrissey, P. A., Sheehy, P. J. A., Galvin, K., Kerry, J. P., & Buckley, D. J. (1998). Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49, Supplement 1(0), S73-S86. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)90039-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0309-1740(98)90039-0)
- O'Keefe, M., & Hood, D. E. (1982). Biochemical factors influencing metmyoglobin formation on beef from muscles of differing colour stability. *Meat Science*, 7(3), 209-228. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(82\)90087-0](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(82)90087-0)
- Pearce, K. L., Rosenvold, K., Andersen, H. J., & Hopkins, D. L. (2011). 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*, 89(2), 111-124. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.007>
- Phung, V. T., Sælid, E., Egelanddal, B., Volden, J., & Slinde, E. (2011). Oxygen Consumption Rate of Permeabilized Cells and Isolated Mitochondria from Pork M. Masseter and Liver Examined Fresh and after Freeze-Thawing at Different pH Values. *Journal of Food Science*, 76(6), C929-C936. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02275.x
- Ramos, E. M., & Gomide, L. A. M. (2007). *Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias*. (1 ed.). Viçosa: Editora UFV.
- Ramos, E. M., Gomide, L. A. M., Ramos, A. L. S., & Peternelli, L. A. (2004). Effect of stunning methods on the differentiation of frozen-thawed bullfrog meat based on the assay of β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase. *Food Chemistry*, 87(4), 607-611. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.013>
- Renner, M. (1990). Factors involved in the discoloration of beef meat. *International Journal of Food Science & Technology*, 25(6), 613-630. doi: 10.1111/j.1365-2621.1990.tb01123.x
- Renner, M., & Labas, R. (1987). Biochemical factors influencing metmyoglobin formation in beef muscles. *Meat Science*, 19(2), 151-165. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(87\)90020-9](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(87)90020-9)
- Robertson, G. L. (2005). *Food Packaging: Principles and Practice, Second Edition*: Taylor & Francis.

- Seideman, S. C., Cross, H. R., Smith, G. C., & Durland, P. R. (1984). Factors associated with fresh meat color: A review. *Journal of Food Quality*, 6(3), 211-237. doi: 10.1111/j.1745-4557.1984.tb00826.x
- Vieira, C., Diaz, M. T., Martínez, B., & García-Cachán, M. D. (2009). 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*, 83(3), 398-404. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.013>
- Vitale, M., Pérez-Juan, M., Lloret, E., Arnau, J., & Realini, C. E. (2014). Effect of aging time in vacuum on tenderness, and color and lipid stability of beef from mature cows during display in high oxygen atmosphere package. *Meat Science*, 96(1), 270-277. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.07.027>
- Zaritzky, N. E. (2000). Factors affecting the stability of frozen Foods. In J. Kennedy (Ed.), *Managing frozen foods* (2nd ed., pp. 111-135). New York: CRC Press.
- Zhang, S. X., Farouk, M. M., Young, O. A., Wieliczko, K. J., & Podmore, C. (2005). Functional stability of frozen normal and high pH beef. *Meat Science*, 69(4), 765-772. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.11.009>