

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE ZOOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**TESE**

**Qualidade de Carne de Bovinos Caracu, Nelore e Angus x  
Caracu diante do Uso de Alta Pressão Hidrostática**

**Rafaella da Rocha Olivieri de Barros**

**2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE ZOOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**Qualidade de Carne de Bovinos Caracu, Nelore e Angus x  
Caracu diante do Uso de Alta Pressão Hidrostática**

**RAFAELLA DA ROCHA OLIVIERI DE BARROS**

*Sob a Orientação do Professora*

**Elisa Cristina Modesto**

*e Co-orientação dos Professores*

**Sabrina Luzia Gregio de Souza**

**e**

**Amauri Rosenthal**

Tese submetida como requisito  
parcial para obtenção do grau de  
**Doutora** no Programa de Pós-  
Graduação em Zootecnia, Área  
de Concentração em Produção  
animal.

Seropédica, RJ

Outubro de 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B277q BARROS, RAFAELLA DA ROCHA OLIVIERI DE, 1987-  
Qualidade de Carne de Bovinos Caracu, Nelore e  
Angus x Caracu diante do Uso de Alta Pressão  
Hidrostática / RAFAELLA DA ROCHA OLIVIERI DE BARROS.  
RIO DE JANEIRO, 2019.  
96 f.

Orientadora: ELISA CRISTINA MODESTO.  
Coorientadora: SABRINA LUZIA GREGIO DE SOUSA.  
Coorientador: AMAURI RESENTHAL.  
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em  
Zootecnia, 2019.

1. Grupo Genético. 2. APH. 3. Amaciamento. 4. MFA.  
5. RMN. I. MODESTO, ELISA CRISTINA, 1973-, orient.  
II. SOUSA, SABRINA LUZIA GREGIO DE, 1978-, coorient.  
III. RESENTHAL, AMAURI, 1960-, coorient. IV  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. V. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**RAFAELLA DA ROCHA OLIVIERI DE BARROS**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Concentração em Produção Animal.

**TESE APROVADA EM 02/10/2019**

Sabrina Luzia Gregio de Sousa

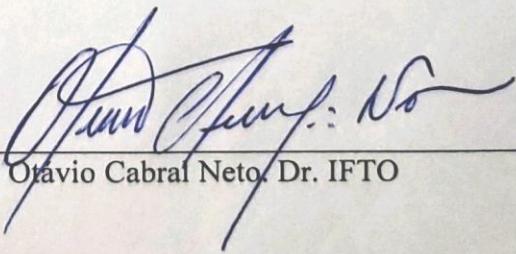
Sabrina Luzia Gregio de Sousa. Drª. UFRRJ  
(Presidente)



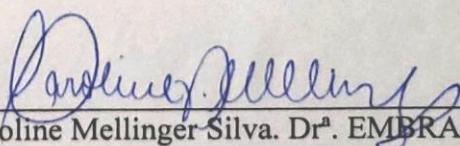
Nivaldo Faria Sant'Ana. Dr. UFRRJ

Cristiane Martins Cardoso de Salles

Cristiane Martins Cardoso de Salles. Drª. UFRRJ



Otávio Cabral Neto. Dr. IFTO



Caroline Mellinger Silva. Drª. EMBRAPA

## AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar forças, sabedoria e perseverança para completar mais esta etapa da minha formação profissional e poder aprimorar meus conhecimentos.

À minha querida mãe por me dar o dom da vida e permanecer durante toda essa caminhada ao meu lado, participando de cada passo que foi dado e servindo-me de fortaleza e exemplo para que eu atinja todos os meus objetivos.

Ao meu irmão, Dr. Rodrigo da Rocha Olivieri de Barros, por me direcionar, mostrando-me diversas opções para solucionar minhas dificuldades e sempre me incentivando na minha vida pessoal e profissional.

À minha orientadora Dra. Elisa Cristina Modesto, pela confiança em aceitar me orientar mesmo sabendo de todas as dificuldades que encontrariam e por seu apoio nas minhas decisões referentes a esta tese e às questões burocráticas encontradas nesta caminhada.

À minha co-orientadora e amiga Dra. Sabrina Luzia Grégio de Sousa, por sua perseverança, amizade, sabedoria e inteligência. Obrigada por estar ao meu lado em todos os obstáculos que encontramos e por ser sempre compreensiva e inteligente para solucioná-los da melhor forma. Agradeço pela excelente orientação e por todos os ensinamentos durante a confecção desta tese pois me auxiliastes incansavelmente em cada etapa, e isto me fez mais forte e capaz de seguir a diante.

Ao meu co-orientador Dr. Amauri Rosenthal, pelas brilhantes ideias para execução das análises realizadas nesta tese, e pela disposição em orientar-me fazendo com que eu aprimorasse os meus conhecimentos na área de Zootecnia e qualidade de carne e, principalmente por sua educação que me fez sentir mais confiante durante esta jornada.

Aos pesquisadores, técnico e alunos de pós-graduação da EMBRAPA CTAA que me ajudaram durante o experimento realizado.

Aos pesquisadores, técnicos e alunos de pós-graduação da EMBRAPA Instrumentação (São Carlos – SP), que auxiliaram-me nas análises de MFA e RMN que foi fundamental para elucidação dos resultados desta tese, trazendo-me novos conhecimentos e questionamentos para futuras pesquisas.

À amiga Lídia Suely Lima de Almeida, pela amizade, companheirismo e força que me destes durante toda esta caminhada, me apoiando sempre e fazendo dos meus objetivos os seus, mostrando-me que todos os obstáculos encontrados da vida podem ser utilizados futuramente como alicerce para construir meus sonhos e provando-me que eu sou capaz de realizar tudo aquilo que almejo.

À amiga Camila Ferreira e Silva, pela amizade, pelos conselhos, pelo incentivo e pela ajuda durante esta caminhada.

Às minhas amigas MScs. e companheiras de alojamento, Sheyla Moreira, Ana Paula Landim, Nara Tinoco, Mônica Neres, Thamires Rezende e Marina Brandão por toda amizade e por me afagarem nos momentos de tristeza e angústia fazendo os meus dias mais leves e felizes.

À fazenda Trijunção e equipe, e em especial aos amigos Allan Figueiredo e Renata Pitombo, por apoarem este experimento nos concedendo a matéria-matéria para execução deste e por nos receber tão bem nesta propriedade.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia que de alguma forma transmitiram-me conhecimentos que foram e continuarão sendo fundamentais para minha formação profissional e pessoal.

Aos coordenadores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia que estiveram neste cargo durante estes quatro anos, apresentando-me desafios de diversas naturezas e com isso, me fizeram mais forte como ser humano.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por me acolher durante todos estes anos de graduação e Mestrado e Doutorado em Zootecnia.

À todos os amigos e familiares que estiveram comigo durante todos esses anos, seja nos momentos felizes ou difíceis, e por compartilharem e acompanharem com satisfação a evolução desta jornada.

À CAPES pois o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## BIOGRAFIA

RAFAELLA DA ROCHA OLIVIERI DE BARROS - filha de Cléber Olivieri de Barros e Luci da Rocha Olivieri de Barros, natural do Rio de Janeiro/RJ, nascida em 10 de julho do ano de 1987. Em 1994, iniciou seus estudos no ensino fundamental no “Instituto São João Baptista”, município do Rio de Janeiro - RJ, na “Escola Municipal República do Peru” e posteriormente no “Instituto Nícia Macieira”, do mesmo município, o qual concluiu em 2001. Cursou o ensino médio no “Colégio Miguel Couto”, município do Rio de Janeiro – RJ, finalizando em dezembro de 2004. Ingressou em junho de 2006 na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), cidade de Seropédica – RJ, no curso de Bacharelado em Zootecnia, graduando-se em agosto de 2011. Durante a graduação realizou estágio no Setor de Equinos do Instituto de Zootecnia na UFRRJ nos anos 2007 e 2008, sob orientação da Profa. Flávia Jesus de Almeida. Realizou também estágio no setor de Reprodução Animal do Instituto de Zootecnia da UFRRJ nos anos de 2010 e 2011, onde foi bolsista do setor sob orientação do Prof. Dr. Marco Roberto Bourg de Mello. Participou de projetos de pesquisas e publicações na área de Reprodução Animal com ênfase em Biotecnologia com Reprodução em Bovinos e Caprinos, assim como cursos e eventos científicos realizados na UFRRJ. No período de agosto a dezembro de 2011 cursou na UFRRJ, como aluna especial, as disciplinas “Tecnologia de Carne, Óleos e Gorduras Animais” e “Fisiopatologia da Reprodução Animal” pertencentes à grade curricular do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade em questão, a fim de aprimorar seus conhecimentos. Em março de 2012, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, nível de Mestrado, na área de concentração em Produção e Nutrição de Ruminantes da UFRRJ, onde foi bolsista da CAPES por tempo parcial, sob orientação do Prof. Dr. Marco Roberto Bourg de Mello e co-orientação da Profa. Dra. Elisa Cristina Modesto. Em Agosto de 2014, ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária na UFRRJ. No período que esteve como aluna de graduação em Veterinária, realizou estágio em clínica de pequenos animais e na fazenda Gericinó (IBEx). Em Agosto de 2015, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, nível de Doutorado, na área de concentração em Produção e Nutrição de Ruminantes da UFRRJ, onde foi bolsista em tempo integral, sob orientação da Profa. Elisa Cristina Modesto e Co-orientação da Profa. Dra. Sabrina Luzia Grégio de Sousa e Prof. Dr. Amauri Rosenthal, atuando na área de qualidade e tecnologia de carne. Nesta data, apresenta e defende a tese como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências, área de concentração Produção Animal com linha de pesquisa em Produção e Nutrição de Ruminantes.

## RESUMO

BARROS, Rafaella da Rocha Olivieri. **Qualidade de carne de bovinos Caracu, Nelore e Angus x Caracu diante do uso da alta pressão hidrostática (APH).** 2019. 80 f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

A carne é um produto altamente perecível e os consumidores adotam a maciez como parâmetro de maior importância. Nesse sentido, a APH tem sido uma opção para aumentar a maciez da carne pois esta tecnologia rompe a estrutura do músculo e proporciona o amaciamento da carne. O objetivo desta pesquisa foi utilizar a APH na carne bovina de diferentes grupamentos genéticos visando a promoção do amaciamento, provocando mínima alteração em relação às características da carne fresca não processadas ou pressurizadas. Foram utilizadas 47 amostras do músculo *longissimus dorsi* de bovinos dos grupamentos genéticos Caracu, Angus x Caracu e Nelore submetidas a dois diferentes níveis de pressão (100 MPa e 200 MPa) para serem comparadas com as amostras de carne não pressurizadas. Foram avaliadas as características: pH final da carne resfriada, PPD, PPP, PPC, FC, CS, atividade de água, L\*, a\*, b\*, AOL e EGC. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3, com três grupos genéticos (CA, CG e NE) e três tratamentos (não pressurizada, pressurização à 100 MPa e 200 MPa). Nas amostras não pressurizadas, observou-se diferença significativa ( $p>0,05$ ) para AOL, onde CG foi estatisticamente maior do que NE, mas ambos foram iguais a CA. Quando as amostras de carne pressurizadas à 100 e 200 MPa foram comparadas com as amostras de carne não-pressurizada (independentemente do grupamento genético) foi observado diferença para FC e b\*, onde, para FC o tratamento à 200 MPa apresentou valores menores que encontrados nas amostras NP, e para b\* as amostras NP apresentaram valores maiores do que às pressurizadas à 100 MPa. Foi observado interação ( $p<0,05$ ) entre os fatores (grupamento genético e pressurização) para os parâmetros PPC, L\*, a\* e b\*. Concluiu-se que a FC e b\* podem ter sido afetadas pela APH. Diante dos resultados de PPD, PPP, RMN, FC, CS, MFA e eletroforese (SDS-PAGE) sugere-se que a APH não tenha afetado estruturas microscópicas das miofibrilas, contudo, pode-se observar nas imagens de MFA e resultados de FC que as estruturas macroscópicas da fibra de carne possivelmente foram afetadas.

**Palavras-chave:** Grupo genético, APH, Amaciamento, MFA e RMN.

## ABSTRACT

BARROS, Rafaella da Rocha Olivieri. **Meat quality of Caracu, Nellore and Angus x Caracu cattle using high hydrostatic pressure (HHP)**. 2019. 80 f. Thesis (Doctor Science in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Meat is a highly perishable product and consumers adopt tenderness as the most important parameter. In this sense, APH has been an option to increase meat tenderness as this technology physically disrupts muscle structure and provides meat tenderness. The objective of this research was to use APH in beef from different genetic groups aiming at the promotion of tenderization without causing alteration in the visual aspect. Forty-seven bovine longissimus dorsi muscle samples from the Caracu, Angus x Caracu and Nellore genetic groups submitted to two different pressure levels (100 MPa and 200 MPa) were compared to the non-pressurized meat samples. The following characteristics were evaluated: final pH of chilled meat, PPD, PPP, PPC, FC, CS, water activity, L \*, a \*, b \*, AOL and EGC. The experimental design was completely randomized, in a 3x3 factorial scheme, with three genetic groups (CA, CG and NE) and three treatments (not pressurized, pressurization at 100 MPa and 200 MPa). In non-pressurized samples, a significant difference ( $p > 0.05$ ) was observed for AOL, where CG was statistically higher than NE, but both were equal to CA. When the pressurized meat samples at 100 and 200 MPa were compared with the non-pressurized meat samples (regardless of genetic grouping), a difference was observed for HR and b \*, where for CF the treatment at 200 MPa presented lower values than those found in NP samples, and for b \* NP samples presented higher values than those pressurized at 100 MPa. Interaction ( $p < 0.01$ ) was observed between the factors (genetic grouping and pressurization) for the parameters PPC, L \*, a \* and b \*. It was concluded that HR and b \* may have been affected by APH. From the results of PPD, PPP, NMR, FC, CS, AFM and electrophoresis (SDS-PAGE) it is suggested that APH does not affect the microscopic structures of myofibrils, however, it can be observed in AFM images and HR results that macroscopic structures of meat fiber were possibly affected.

**Keywords:** Genetic group, HHP, Tenderization, AFM and NMR.

## ÍNDICE DE TABELAS

	Pag.
<b>TABELA 1.</b> Parâmetros de qualidade da carne não pressurizada de diferentes grupamentos genéticos de bovinos.....	34
<b>TABELA 2.</b> Parâmetros de qualidade de carnes não pressurizadas e pressurizadas.....	36
<b>TABELA 3.</b> Resultado do efeito da interação dos diferentes grupamentos genéticos com os tratamentos de carnes pressurizadas e não pressurizadas, médias entre os tratamentos e médias entre os grupamentos genéticos .....	38
<b>TABELA 4.</b> Resultado da análise de ressonância magnética nuclear (RMN) nos grupamentos genéticos Caracu (CA), Angus x Caracu (CG) e Nelore (NE) com os tratamentos de carnes pressurizadas à 100 MPa, 200 MPa.....	41
<b>TABELA 5.</b> Resultado das análises de força de cisalhamento e ganho médio de amaciamento da carne bovina em diferentes grupamentos genéticos com os tratamentos de carnes pressurizadas e não pressurizadas.....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag.
<b>FIGURA 1.</b> A) <i>Bos taurus</i> . B) <i>Bos indicus</i> .....	6
<b>FIGURA 2.</b> Transformação do músculo em carne.....	8
<b>FIGURA 3.</b> Cortes primários de carne bovina.....	9
<b>FIGURA 4.</b> Estado químico das mioglobinas.....	11
<b>FIGURA 5.</b> Sistema colorimétrico CIELab color space.....	12
<b>FIGURA 6.</b> Esquematização da fibra muscular, sarcômero e suas unidades funcionais.	17
<b>FIGURA 7.</b> A) Foto do equipamento de alta pressão hidrostática da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos. B) Esquema adaptado do piloto de alta pressão da Alstom Fluides et Mecaniques.....	19
<b>FIGURA 8.</b> Gráfico de quantificação de proteínas solúveis do exsudato proveniente do descongelamento e pressurização da carne .....	43
<b>FIGURA 9.</b> Visão 2D de MFA de miofibrila de amostra de carne .....	46
<b>FIGURA 10.</b> Visão 3D de MFA de miofibrila de amostra.....	46
<b>FIGURA 11.</b> Observação visual de amostras de carne <i>não pressurizada</i> , pressurizada à 100 MPa e pressurizada à 200 MPa de animais pertencentes ao grupamento Caracu.....	49

**FIGURA 12.** Observação visual de amostras de carne *não pressurizada*, pressurizada à 100 MPa e pressurizada à 200 MPa de animais pertencentes ao grupamento Angus x Caracu..... 49

**FIGURA 13.** Observação visual de amostras de carne *não pressurizada*, pressurizada à 100 MPa e pressurizada à 200 MPa de animais pertencentes ao grupamento Nelore..... 50

**FIGURA 14.** Perfil proteico por SDS-PAGE do músculo *Longíssimus dorsi* de bovinos Nelore (NE), Caracu (CA) e Angus x Caracu (CG) sob os tratamentos de pressurização à 100 MPa, 200 MPa e não pressurizados. ..... 53

## ÍNDICE DE SIGLAS

<b>FAO</b>	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
<b>APH</b>	Alta Pressão Hidrostática
<b>DFD</b>	Dark, Firm, Dry
<b>PSE</b>	Palid, Soft, Exsudative
<b>RISPOA</b>	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
<b>EMBRAPA</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
<b>MetMb</b>	Metamioglobina
<b>Mb</b>	Mioglobina
<b>MbO<sub>2</sub></b>	Oximioglobina
<b>CIEL</b>	<i>Commission Internationale Illumination</i>
<b>L*</b>	Luminosidade
<b>a*</b>	Intensidade de vermelho
<b>b*</b>	Intensidade de amarelo
<b>CRA</b>	Capacidade de Retenção de Água
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>CPMG</b>	Carr-Purcell-Meiboom-Gil
<b>DSC</b>	Differentiak Scanning Calorimetru
<b>PCA</b>	Análise de Componentes Principais
<b>PLSR</b>	Redução Parcial dos Quadrados Mínimos
<b>T<sub>2</sub></b>	Tempo de Relaxação Transversal
<b>FC</b>	Força de Cisalhamento
<b>MFA</b>	Microscopia de Força Atômica
<b>pH</b>	Potencial Hidrogênico
<b>UFRRJ</b>	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
<b>IFM</b>	Índice de fragmentação miofibrilar
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>Ca<sup>+2</sup></b>	Íon de Cálcio

<b>°C</b>	Temperatura em graus Celsius
<b>MPa</b>	Mega Pascal
<b>%</b>	Porcentagem
<b>cm</b>	Centímetro
<b>LAAB</b>	Laboratório de Análise de Alimentos e Bebidas
<b> mL</b>	Mililitros
<b>NP</b>	Não Pressurizada
<b>CA</b>	Caracu
<b>CG</b>	Caracu x Angus
<b>NE</b>	Nelore
<b>CQ</b>	Carcaça Quente
<b>CF</b>	Carcaça Fria
<b>PPD</b>	Perda de Peso por Descongelamento
<b>PPP</b>	Perda de Peso por Pressurização
<b>PPC</b>	Perda de Peso por Cozimento
<b>CS</b>	Comprimento do Sarcômero
<b>AOL</b>	Área de Olho de Lombo
<b>EGC</b>	Espessura de Gordura de Cobertura
<b>MHC</b>	Cadeia Pesada da Miosina
<b>MLC</b>	Cadeia Leve da Miosina
<b>Tn</b>	Troponina
<b>Tm</b>	Tropomiosina
<b>TnT</b>	Troponina T
<b>TnC</b>	Troponina C
<b>TnI</b>	Troponina I

## SUMÁRIO

### UFRRJ / Biblioteca Central / Divisão de Processamentos Técnicos

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1. Bovinocultura de Corte.....	3
2.2. Fatores que Influenciam na Qualidade da Carne Bovina.....	5
2.2.1. Fatores <i>ante-mortem</i> .....	5
2.2.2. Fatores <i>post-mortem</i> .....	6
2.3. Carne Bovina e seus Atributos.....	8
2.3.1. Cor da carne.....	9
2.3.2. Capacidade de retenção de água (CRA).....	122
2.3.3. Maciez e força de cisalhamento (FC).....	133
2.4. Ferramentas Analíticas para Avaliação da Carne.....	14
2.4.1. Ressonância magnética nuclear (RMN).....	14
2.4.2. Comprimento do sarcômero e microscopia de força atômica.....	16
2.4.3. Uso da alta pressão hidrostática em carne.....	18
2.5. Efeito da Alta Pressão Hidrostática nas Enzimas Proteolíticas (Calpaínas, Catepsinas e Calpastatina) da Carne .....	20
2.6. Análise do Perfil de Proteínas por Eletroforese.....	23
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>29</b>
3.1. Local de Origem dos Animais Selecionados para o Experimento.....	28
3.2. Seleção das Carcaças.....	29
3.3. Processamento da Carne.....	29
3.3.1. Preparo das amostras.....	29
3.3.2. Alta pressão hidrostática (APH).....	29
3.4. Métodos Analíticos Laboratoriais.....	30

3.4.1. Força de cisalhamento e perdas de peso por cozimento.....	30
3.4.2. Cor da carne.....	30
3.4.3. Perfil de proteínas.....	31
3.4.4. Ressonância magnética nuclear (RMN).....	31
3.4.5. Microscopia de força atômica (MFA).....	32
3.4.6. Dosagem de proteínas solúveis.....	32
3.5. Análise Estatística.....	33
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>34</b>
4.1. Efeito de Diferentes Grupamentos Genéticos e Níveis de Pressão .....	38
4.1.1.pH.....	39
4.1.2. Atividade de água.....	40
4.1.3. Perda de peso por pressurização (PPP).....	42
4.1.4. Resultado da quantificação de proteínas solúveis do exsudato proveniente do descongelamento e pressurização da carne.....	42
4.1.5. Perda de peso por cozimento (PPC).....	43
4.1.6. Força de cisalhamento (FC).....	44
4.1.7. Comprimento de sarcômero (CS).....	46
4.1.8. Cor da carne.....	49
4.1.8.1. Luminosidade (L*).....	50
4.1.8.2. Intensidade de vermelho (a*).....	51
4.1.8.3. Intensidade de amarelo (b*).....	51
4.9. Efeito da APH e Grupamentos Genéticos sobre o Perfil de Proteínas.....	52
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>58</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura é uma das atividades de maior relevância para o agronegócio no cenário mundial. Este setor no Brasil é o que mais se destaca e contribui para o fortalecimento da economia com 213,7 milhões de cabeças, respondendo individualmente por um quarto do Produto Interno Bruto (MAPA, 2019). Dessa forma, as atividades da pecuária no Brasil possuem forte representatividade na geração de divisas para o país e impactam diretamente no saldo da balança comercial.

Nas últimas décadas a pecuária de corte brasileira evoluiu muito em relação à qualidade e produtividade. De acordo com os dados da FAO (2018), esta cadeia produtiva apresentou um crescimento de 4,4%, o que representa um aumento de 9,9% milhões de toneladas de carne.

Devido ao Brasil ser um país com grande extensão territorial, a maioria dos bovinos destinados à produção de carne são criados extensivamente, o que dificulta aos criadores de gado de corte, manter um ganho de peso constante dos animais pois neste sistema de criação a qualidade da alimentação está atrelada à condições edafo-climáticas, fazendo com que este fator, torne-se um gargalo na fase de recria e engorda. Diante deste cenário, sempre que possível, os produtores de gado tentam preconizar o tempo de comercialização dos animais, buscando alternativas seguras que maximizem a receita e diminuam os custos ao longo do ciclo produtivo (FREITAS, 2013). Para tanto e para atender as demandas dos consumidores, alguns pecuaristas têm utilizado sistemas intensivos de produção.

Atualmente a pecuária de corte pode ser vista como uma indústria que tem o objetivo de atender as exigências dos consumidores sob diversos aspectos. Estes podem ser denominados como, qualidade visual, qualidade nutricional e aspectos sanitários. Sendo a carne bovina, o produto em questão, deve-se considerar que a tendência do consumidor é ser cada vez mais exigente e seletivo. Portanto, é de extremo interesse comercial ressaltar o valor nutritivo deste alimento, bem como, suas características sensoriais. Muitas são as expectativas do mercado consumidor mundial por produtos de qualidade, enquanto a cadeia de produção ainda possui muitos gargalos a serem resolvidos.

No que se refere a qualidade da carne *não pressurizada*, avaliada através da característica maciez, muitos autores (FELÍCIO et al. (1988), CROUSE et al. (1989), DI COSTANZO (2004), ANDRADE et al. (2010), relatam que, embora com o mesmo valor nutricional, a carne de origem taurina (*Bos taurus taurus*) possui maior maciez do que a carne de origem zebuína por esta última apresentar maior quantidade de calpastatina na sua composição muscular. Nesse sentido, criadores de zebuínos têm utilizado como ferramenta o cruzamento com gado europeu, objetivando produzir animais mais precoces e com a carne mais macia, visto que a maciez está relacionada a genética do animal.

A carne é um produto altamente perecível, por isso, atualmente busca-se alternativas para aumentar o tempo de prateleira deste produto. A maciez da carne, para os consumidores, é o parâmetro de maior importância, dessa forma têm-se empregado técnicas de melhoramento animal ou até mesmo técnicas de beneficiamento do produto cárneo afim de melhorar a qualidade da carne, principalmente em relação a maciez. Contudo, é necessário lembrar que o término do sistema de produção culmina no início do desenvolvimento de tecnologias de alimentos que por sua vez pode interferir na melhoria da qualidade do produto. Portanto, atualmente, busca-se intensificar e modernizar a atividade. Nesse sentido, a tecnologia de alta pressão hidrostática (APH) surge como uma opção para beneficiar a maciez da carne pois o processo de APH utiliza ondas de choque de pressão para romper fisicamente a estrutura do músculo, conferindo maior maciez ao produto (BOWKER et al., 2006). Além de proporcionar o amaciamento da carne, a APH atua no processo de segurança alimentar pois a aplicação desta técnica pode causar danos à carga microbiana e à sua viabilidade, tanto danificando as células

como inativando-as e consequentemente, aumenta a validade comercial da carne processada (LÓPEZ-CABALLERO et al., 1999).

A APH, diferente das demais tecnologias empregadas para o beneficiamento de produtos cárneos, possui a vantagem de trata-se de um método não térmico de processamento de alimentos, sendo, portanto, recomendada para processamento em carnes causando o mínimo de alteração das características sensoriais em carnes frescas. De acordo com Meyer et al. (2000), outra vantagem desta técnica é que o uso de pressão evita o dano de calor excessivo que ocorre nos demais processos térmicos e é um processo que acontece em frações de um milissegundo, além de gastar menos energia, espaço e mão de obra, quando comparado à outros processos.

Para tanto, esta pesquisa teve como objetivo utilizar a tecnologia de alta pressão hidrostática na carne bovina de diferentes grupamentos genéticos visando a promoção do amaciamento deste produto sem provocar alteração no aspecto visual.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Bovinocultura de Corte

A pecuária de corte apresenta uma ampla gama de sistemas de produção que variam desde uma pecuária extensiva, suportada por pastagens nativas e cultivadas de baixa produtividade e pouco uso de insumos, até uma pecuária dita intensiva, com pastagens de alta produtividade, suplementação alimentar em pasto e confinamento. A bovinocultura de corte é considerada uma das cadeias produtivas mais extensas e complexas, pois envolve desde a indústria de equipamentos e insumos até o consumidor final e tem especial importância o elo central representado pelas fazendas de gado (CEZAR et al., 2005).

De acordo com dados da FAO, USDA e IBGE (2018), o Brasil tem o maior rebanho de bovinos de corte do mundo, com aproximadamente 213,7 milhões de cabeças, sendo a pecuária de corte uma das principais atividades econômicas do país, a qual anteriormente era caracterizada pelo atraso tecnológico e atualmente é administrada como uma empresa, diante do uso das tecnologias para ajudar a ampliar esta área. Um dos fatores que proporciona o crescimento dos bovinos de corte no país é a diversidade de raças e o desenvolvimento genético que seleciona animais com desempenho superior, tornando o Brasil um país competitivo no mercado de produção de carne.

Ao iniciar uma atividade de bovinocultura de corte, o pecuarista deve levar em consideração a realidade de sua propriedade e o nível de tecnologia que almeja empregar para posteriormente escolher a raça que será criada. Independente do grau de intensidade dos sistemas, os rebanhos apresentam uma predominância dos genótipos zebuínos, em especial da raça Nelore, nas regiões Sudeste, Centro-Oeste, Norte e Nordeste, e os taurinos predominam na região Sul, destacando-se as raças Hereford, Aberdeen Angus, Simmental e Charolês (MAPA, 2019).

Com origem indiana, a raça Nelore passou por intenso melhoramento genético no Brasil, sendo direcionada quase que exclusivamente à produção de carne, embora na sua origem a raça tenha sido utilizada para a exploração leiteira. Esta raça apresenta como vantagens a excelente adaptação às regiões mais quentes do país além de resistência a restrições alimentares, por possuir excelente capacidade de aproveitar alimentos grosseiros. Adicionalmente, possui resistência natural a parasitas, devido às características de seus pelos, que impedem ou dificultam a penetração de pequenos insetos na superfície da pele ou que aí tentam se fixar e sua pele escura, fina e resistente, dificulta a ação de insetos sugadores, além de produzir secreção oleosa repelente, que se intensifica quando os animais estão expostos ao calor. Ainda é importante ressaltar que o Nelore é muito resistente ao calor devido à sua superfície corporal ser maior em relação ao corpo e por possuir maior número de glândulas sudoríparas (MARTINS FILHO, 2001), caracterizando rusticidade a esta raça. Além disso, o trato digestivo é 10% menor em relação aos europeus, portanto seu metabolismo é mais baixo e gera menor quantidade de calor (VÉRAS et al., 2001).

De acordo com Arieira et al. (2008), o Nelore é a raça, no Brasil, que possui a carcaça mais próxima dos padrões exigidos pelo mercado, por apresentar porte médio, ossatura fina, leve, porosa e menor proporção de cabeça, patas e vísceras, conferido excelente rendimento nos processos industriais. As carcaças de Nelore possuem distribuição homogênea da cobertura de gordura, evitando que, durante o resfriamento, ocorra o encurtamento das fibras pelo frio e fazendo com que esta carcaça seja muito valorizada no mercado. Portanto, a padronização das carcaças Nelore otimiza a estrutura industrial e agrega valor aos cortes. A carne dos animais desta raça tem como principais características, o sabor e o baixo teor de gordura de marmoreio,

que por sua vez, atende às exigências da tendência mundial crescente que tem preferência por carnes magras, visando a saudabilidade dos alimentos.

Atualmente, uma das raças taurinas mais famosas do país é o Aberdeen Angus que possui origem europeia e produz carnes com excelentes características de maciez e sabor. Esta raça é proveniente do cruzamento entre a linhagem bovina mocho de Aberdeen e outra de Angus e foi registrada na Escócia no ano de 1862, sendo trazida para o Brasil através dos pastos da área de Bagé. Diante de relatos da literatura, a partir de 1920, o Angus se expandia nos campos do Rio Grande do Sul, em virtude da grande adaptabilidade que o animal britânico apresentou nos pampas, o que deu seguimento a determinadas exposições de agropecuária, que reuniam aproximadamente 600 criadores de Angus, iniciando a presença desta raça pelos campos do Brasil.

O Angus apresenta importância para o gado de corte e suas principais vantagens são a alta fertilidade e precocidade sexual, habilidade materna, facilidade de parto, eficiência alimentar e, como consequência, atingem a puberdade e o estado de abate mais cedo. Trata-se de uma raça de produção extrema no campo e que disponibiliza uma carne de ótima qualidade, acompanhada de índice bom de marmoreio e uma capa gordurosa dotada de uniformidade e espessura (ARIEIRA et al., 2008). Sobretudo, alguns parâmetros da raça ainda precisam ser melhorados. A seleção desta raça precisa ser feita no sentido de escolher animais mais resistentes a carapatos, e que se adaptem ao clima brasileiro.

O crescimento da raça Angus vêm sendo vertiginoso no Brasil. Diante de dados da Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA), em 2014, foram comercializadas 8071 milhões de doses de sêmen entre todas as raças no país sendo 48% destas, correspondente à venda de sêmen de Angus, colocando a raça com boa representatividade no país. Desta forma, 43% da produção nacional de mestiços angus concentrou-se nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás, tornando estes, os maiores produtores de meio sangue do país.

De acordo com Arieira et al. (2008) o Aberdeen tem como características fundamentais a rusticidade, precocidade, fertilidade e a qualidade da carne. Esta raça se destaca entre as taurinas por reunir um maior número de características positivas que lhes asseguram um excelente resultado econômico como gado de corte. Na busca de uma pecuária mais eficiente, quando se planeja um cruzamento, deve-se levar em consideração não só a utilização de novilhos pesados e precoces, mas também de fêmeas de reposição que tenham alto índice de habilidade materna, períodos entre partos curtos e alta resposta reprodutiva quanto à repetição de crias. Através de sua fertilidade, o gado Aberdeen proporciona aos seus criadores um maior rendimento, tanto pelo número de bezerros nascidos quanto pela quantidade de quilos obtidos por hectare. A longevidade, associada à fertilidade representa, ao final, mais crias produzidas. Portanto, o Aberdeen produz um animal com alta qualidade de carne, apropriada não só para o mercado interno como também para o mercado externo. Os animais desta raça, quando atingem 3 a 6 mm de gordura (exigências europeias) já possuem uma porcentagem considerável de gordura de marmoreio (gordura entremeada na carne), o que lhe confere maciez e sabor à carne.

As raças de bovinos de origem europeia adaptadas aos trópicos, como a Caracu, também podem contribuir significativamente para melhorar a eficiência e o desenvolvimento da pecuária de corte no Brasil, uma vez que estão presentes no país desde o século XVI (PEREIRA et al., 2006).

O gado Caracu é constituído por animais cujas características atuais são uma evolução adaptativa de raças de origem portuguesa, introduzidas no Brasil no início da colonização. As raças que contribuíram para a formação do gado Caracu eram provenientes de cruzamentos entre raças originárias basicamente de dois troncos: o Aquitânico, composto pelas raças Transtagana, Minhota, Alentejana e outras; e o tronco Ibérico, representado pelas raças Barrosã, Arouquesa, Mirandesa e Brava (EL FARO, 1996). O Caracu teve sua origem principalmente nos vales dos rios Sapucaí, São Francisco e Pardo, proveniente de rebanhos do Estado de Minas

Gerais, MG (LIMA et al., 1992). No começo do século XX, o Caracu constituía-se em uma raça considerada boa pelos pecuaristas da época e os animais, muito fortes e rústicos, serviam para os trabalhos de tração, além da produção de leite e carne. Com a introdução do zebu na década de 40, a raça quase desapareceu. A partir da década de 70, as qualidades adaptativas e produtivas da raça Caracu foram sendo reavaliadas e valorizadas, e houve um resgate da raça em várias regiões do país (LIMA et al., 1992).

Estes animais sofreram rigorosa seleção natural e suportam servir em monta natural em climas em que animais de origem europeia não teriam a mesma habilidade, como no Brasil Central (PEREIRA et al., 2006).

Em geral, o Caracu apresenta pelagem amarela de várias tonalidades e mucosas de cor clara, às vezes pigmentadas (DOMINGUES, 1961, LIMA et al., 1992). A bibliografia sobre a raça é sumária no que se refere às características do pelame e da epiderme. De acordo com estudos realizados por Nicolau et al. (2004), o grau de pigmentação da epiderme e do pelame varia conforme a estação do ano, onde, durante o inverno é mais clara e no verão mais escura. Já o comprimento dos pelos é curto. Portanto, estes autores concluíram que nesta raça ocorrem duas mudas anuais no pelame: no outono (maio), são observados pelos de inverno, mais claros e compridos, os quais se sobrepõem aos mais escuros e curtos do verão; na primavera (outubro), os pelos de inverno são substituídos por pelos mais escuros e curtos. Logo, uma vez que tanto a pigmentação da epiderme como as características do pelame são importantes para o desempenho fisiológico dos animais diante dos fatores ambientais, seria interessante conhecer a distribuição fenotípica da raça quanto a essas variáveis, visando ao processo seletivo para as características mais desejáveis.

Portanto, pode-se afirmar que a raça Caracu, em relação a produção, alcança resultados positivos no Brasil devido a sua característica de adaptabilidade. Para tanto, tem sido realizados cruzamentos do Caracu com taurinos ou zebuínos, obtendo na F1 resultados favoráveis quanto a precocidade sexual e de terminação obtendo na F1 resultados favoráveis quanto a precocidade sexual e de terminação, alta conversão alimentar e carne de alta qualidade (AZAMBUJA et al., 2010; NUNES et al., 2010; COSTA et al., 2012).

## 2.2. Fatores que Influenciam na Qualidade da Carne Bovina

A carne possui parâmetros de qualidade que impactam na escolha do consumidor. Diversos são os fatores que podem ser avaliados na qualidade da carne e os mais utilizados em experimentos são, a cor, capacidade de retenção de água, sabor, aroma e maciez, sendo este último considerado o mais importante para a avaliação de qualidade deste produto.

Boleman et al. (1997), citado por Brooks et al., (2000) relatou que atualmente os consumidores estão dispostos a pagar mais por uma carne mais macia, garantindo assim, um produto de maior qualidade.

Para obtenção de uma carne de mais macia, diversos mecanismos que podem ser utilizados e estes podem ser divididos em fatores *ante-mortem* e *pós-mortem*.

### 2.2.1. Fatores *ante-mortem*

Os fatores *ante-mortem* que podem interferir na qualidade final do produto são: a genética, o sistema de criação, o bem-estar e a idade em que o animal abatido.

Carnes oriundas de animais que possuem maior composição genética de gado europeu (*Bos taurus taurus*) podem apresentar valores mais favoráveis em relação a maciez do que aquelas carnes oriundas de animais com maior composição genética de zebuínos (*Bos taurus indicus*) (Figura 1A) (Figura 1B). Entretanto, estima-se que a base do rebanho brasileiro é composta por zebuínos e seus cruzamentos, correspondendo este valor a 80% do total de

bovinos criados nos países (MAPA, 2019). Quando o objetivo destes cruzamentos é a qualidade final do produto existe a tendência da utilização de animais de raças europeias, ou seja, almejando obter um animal resistente a condições de sistema extensivo de criação e manter a qualidade, tem sido realizados cruzamentos destas subespécies.



**Figura 1.** A) Raça Caracu (*Bos taurus taurus*). B) Raça Nelore (*Bos taurus indicus*). (Fonte: Arquivo pessoal)

O tipo de sistema utilizado para criação também pode influenciar o produto final. Os sistemas de criação de gado podem ser: extensivo, semi-intensivo e intensivo.

Animais criados em sistema extensivo, demoram mais tempo para chegar ao peso de abate, com isto, são abatidos mais tarde. O aumento da idade de abate possui correlação positiva com o aumento das ligações cruzadas que compõem o colágeno, conferindo menor maciez a carne.

Outro fator que pode influenciar na qualidade final do produto é o manejo pré-abate. O abate realizado sob práticas de bem-estar animal minimiza a evidência de problemas tecnológicos que podem causar alterações no produto, influenciando a qualidade final. Honikel et al. (1980) e Pardi et al. (2001), afirmaram que a degradação anormal de glicogênio muscular pode ocorrer devido ao estresse pré-abate, causando a diminuição da queda brusca do pH, antes da dissipação do calor inerente a massa muscular do animal e, como consequência, a desnaturação de proteínas musculares, afetando propriedades bioquímicas e tecnológicas como a diminuição da capacidade de retenção de água, mudanças na aparência da cor normal da carne, acarretando num fenômeno chamado de carne pálida, mole e exsudativa, ou, PSE (pale, soft and exudative). Já a carne DFD (dark, firm and dry), ou seja, escura, dura e seca ocorre quando bovinos são colocados sob condições de estresse por um longo período, ficando fatigados e isto irá acarretar pouca variação do pH da massa muscular em relação a animais abatidos sob condições normais. Isto se dá pela baixa concentração de glicogênio no momento do abate. Neste caso, as proteínas apresentam maior capacidade de retenção de água, tornando a carne pegajosa e escura, além de ser mais suscetível à contaminação microbiológica (ABERLE et al., 2001).

### 2.2.2. Fatores post-mortem

A sangria proporciona a morte do animal porque neste momento as reservas de oxigênio e nutrientes para o tecido muscular são esgotadas e como consequência a isto, inicia-se o processo de *rigor mortis* (SILVA et al., 2002; ORDÓÑEZ et al., 2005). Porém, a atividade celular continua, na tentativa de adaptar-se às novas condições, inclusive a reserva energética representada pela taxa de adenosina trifosfato (ATP), que é degradada pela ação das ATPases para a obtenção de energia (ORDÓÑEZ et al., 2005). Ao cessar a distribuição de nutrientes e oxigênio, o glicogênio através da glicólise anaeróbica torna-se a última fonte de ATP disponível

que, associado à incapacidade da fibra muscular para eliminar as substâncias resultantes do metabolismo, provoca a redução da taxa de ATP e de glicogênio e o acúmulo de ácido lático, promovendo o decréscimo gradativo do pH (SILVA et al., 1999; PRATES, 2000).

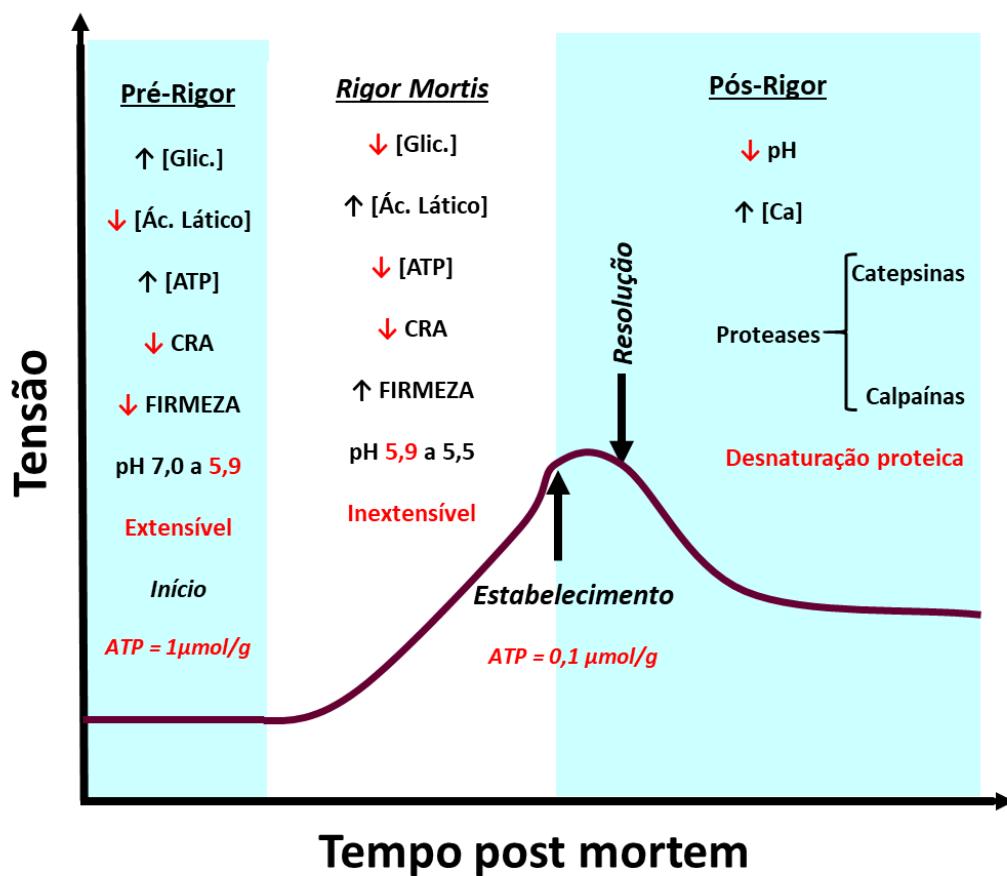
O declínio do pH caracteriza-se como uma das alterações *post mortem* mais significativas durante a conversão do músculo em carne, sendo proporcional ao acúmulo de ácido lático e, inversamente proporcional à reserva de glicogênio da musculatura animal. O músculo de animais recém abatidos apresenta pH em torno de 6,9 a 7,2, e reduções crescentes nas concentrações de ATP e fosfocreatina, sendo esta última a principal fonte de energia utilizada para reconstituir o ATP (ALVARADO & SAMS, 2000). A segunda fonte utilizada é o glicogênio muscular e por último, o metabolismo oxidativo, que consiste na reação do oxigênio com vários nutrientes celulares com liberação de energia (QUALI, 1992; SILVA et al., 1999).

A fase de rigor ocorre quando a maior parte das cabeças de miosina permanecem aderidas aos sítios de ligação da actina. Segundo Christensen et al. (2004) após a contração, o  $\text{Ca}^{+2}$  liberado no sarcoplasma é rebombeado ao retículo sarcoplasmático, promovendo o relaxamento, e para tanto ocorre a desfosforilação do ATP. No organismo morto não ocorre síntese, logo, acontece o *rigor mortis* (SILVA et al., 1999; ORDÓÑEZ et al., 2005).

A taxa de degradação protéica no amaciamento de carne não parece ser resultado direto do tipo de fibra principal e, sim, às suas características, tais como o potencial proteolítico, representado pela proporção de calpaínas e a taxa de declínio de pH (CHRISTENSEN et al., 2004). A variação no grau de proteólise é em grande parte devido ao sistema de calpaínas e ATPase miosina que necessitam de íons  $\text{Ca}^{+2}$  livres no citoplasma para sua atividade (HWANG et. al., 2003). Destaca-se a ação das enzimas proteolíticas no processo de maciez da carne. A proteólise muscular parece ser o principal contribuinte nesse processo, que pode ser realizada pelas proteases endógenas e exógenas. Entre as endógenas, estão dois sistemas, as proteases  $\text{Ca}^{+2}$  dependentes (CDP), armazenadas no retículo sarcoplasmático, como as calpaínas (QUALI, 1992), e as catepsinas, contidas nos lisossomos, responsáveis pelas alterações durante período de resolução do *rigor mortis*, sendo sugerida uma cooperação entre ambos os sistemas (MOELLER et al., 1976; SARGIANOS et al., 1996). A atividade das catepsinas decresce no interior dos lisossomos e aumenta no sarcoplasma em músculos mantidos a 0°C, comprovando que são liberadas dessas organelas durante o armazenamento (TAKAHIKO & UENO, 1997).

As calpaínas atuam em pH elevado, em torno de 7,5 (CHRISTENSEN et al., 2000; CHRISTENSEN et al., 2004), sendo responsáveis pela degradação da estrutura miofibrilar no início do período *post mortem*, enquanto as catepsinas teriam menor participação, por apresentarem como valor de pH ótimo em 5,6, quando o processo de resolução do rigor já teria se iniciado. Koohmaraie (1992), e Geesink & Koohmaraie (1999) enfatizaram que o sistema de calpaínas é o grande responsável pela degradação da estrutura da contração máxima do rigor, sendo assim responsável, em grande parte pelo desenvolvimento da maciez da carne.

Durante o desenvolvimento do *rigor mortis*, a temperatura e pH iniciais das carcaças diminuem gradativamente (Figura 2). Por isso, temperatura e pH são utilizados como parâmetros para monitorar a qualidade das carnes. A velocidade do *rigor mortis* é controlada, principalmente, pela reserva de glicogênio, pH e temperatura do músculo. Temperaturas de resfriamento, aliadas ao declínio do pH, aceleram a liberação de  $\text{Ca}^{+2}$  do retículo sarcoplasmático (KANDA et al., 1977; BYRNE et al., 2001). A taxa de resfriamento do músculo durante o *rigor mortis* influencia a taxa de glicólise e ação das proteases, além de proporcionar o declínio do pH e, consequentemente, a taxa de amaciamento (MARSH et al., 1987).



**Figura 2.** Transformação do músculo em carne (Fonte: Adaptado de <https://sites.google.com/site/portfoliotpoa/transformacao-de-musculo-em-carne>)

Temperaturas consideradas elevadas, em torno de 40°C, aceleram as reações químicas que ocorrem durante o *rigor mortis*, proporcionando diminuição de pH, enquanto as baixas temperaturas retardam esse decréscimo, sendo necessário maior tempo para atingir valor de pH de 5,8 (SILVA et al., 1999). Portanto, a perda de calor do músculo durante o processo de *rigor mortis* deve ser controlada, pois uma redução muito brusca minimiza a desnaturação protéica e inibe o crescimento de microorganismos. Porém, quando essa perda é rápida demais, ocorrem consequências indesejáveis, como o encurtamento pelo frio e, quando o congelamento ocorre antes da finalização deste processo, ocorre o rigor do descongelamento (PEARSON & DUTSON, 1995; PARDI et al., 2001).

Temperaturas entre 1°C e 7°C são as melhores para o *rigor mortis*, conferindo à carne melhor maciez (TORNBERG et al., 2000). Este atributo sensorial na carne é muito influenciado pela temperatura do músculo nas primeiras três horas *post mortem*. Nesse período, se a temperatura interna do músculo for mantida próximo à 37°C, através da espessa camada de gordura de cobertura ou manipulação de carcaças a temperatura ambiente, resultaria em maior maciez, porém não seria viável devido ao desenvolvimento do crescimento microbiano (MARSH et al., 1981).

### 2.3. Carne Bovina e seus Atributos

De acordo com o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA), carnes são massas musculares e os demais tecidos que os acompanham, incluída ou não a base óssea correspondente, procedentes das mais diferentes espécies animais,

julgadas aptas para o consumo pela inspeção veterinária oficial. É um alimento ínfimo pois tem a capacidade de agradar o consumidor, saciando-lhe a fome e dando-lhe prazer (GOMIDE et al., 2006).

A carne (Figura 3) possui elevado teor nutritivo, sendo fonte de proteína de alto valor biológico e aminoácidos essenciais, possui alguns elementos além do ferro (hemínimo), como o zinco, magnésio e vitaminas do complexo B. Apesar de ser evidente que a carne forneça a maioria dos nutrientes necessários à saúde, existem controvérsias sobre o efeito de outros fatores, que acabam restringindo o consumo de carne pela população, com o seu elevado custo e a associação de sua ingestão com problemas cardiovasculares, obesidade, hipertensão e desenvolvimento de carcinomas (COSGROVE & KIELY., 2005; LAWRIE, 2005).



**Figura 3.** Cortes primários de carne bovina (Fonte: Arquivo pessoal)

A definição de qualidade para a carne bovina é de fato complexa, mas pode ser resumida em quatro dimensões. A visual (englobando a apresentação da carne e o seu aspecto), a gustativa (através da sensação durante o consumo), a nutritiva que envolve os valores nutricionais e o atendimento das demandas por nutrientes essenciais e o higiênico-sanitária (determinada pelo processo de produção) (GOMES et al., 2017). Nesse contexto, a qualidade da carne bovina está relacionada com as propriedades físico-químicas (maciez, sabor, cor, odor e suculência), sendo que essas, características mensuráveis para avaliação da qualidade e determinadas pelos muitos fatores inerentes aos bovinos (genética, idade e sexo), ao clima (radiação solar, temperatura e umidade), ao manejo alimentar, transporte, manejo pré-abate, abate e pós-abate (COSTA, 2012).

### **2.3.1. Cor da carne**

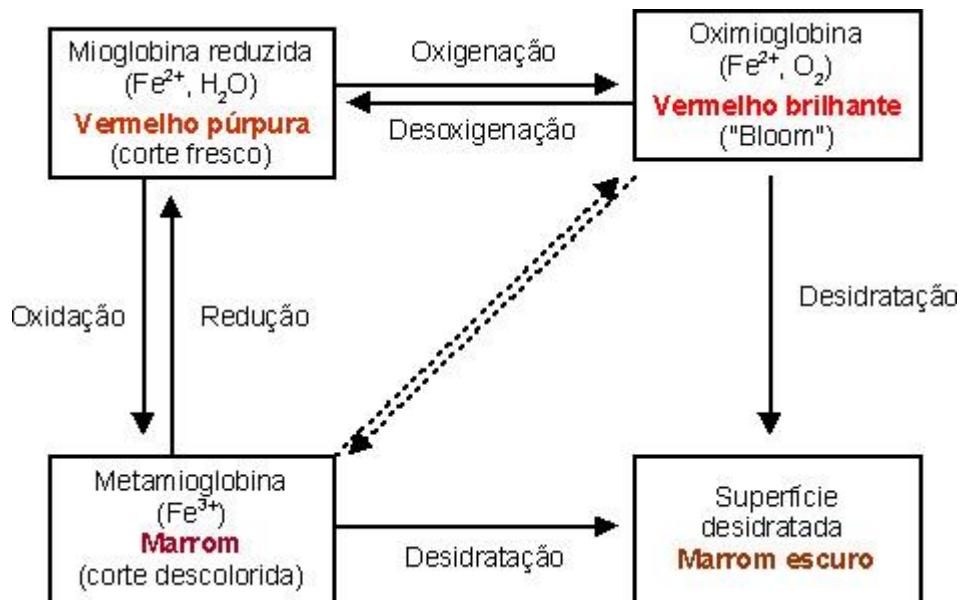
A cor da carne é a primeira característica percebida pelo consumidor, fazendo com que estes, aceitem ou rejeitem o produto, se o produto não estiver com a aparência esperada (MUCHENJE et al., 2009; QIAO et al., 2001; OLIVO, 2006). De acordo com Feldhusen et al. (1995) e Ordóñez et al. (2005), a cor é a impressão óptica relacionada de imediato com diversos aspectos ligados à qualidade e ao grau de frescor, portanto, o aspecto exterior pode ser associado à vida útil, à dureza, à suculência e ao tempo de armazenamento, durante ao qual correspondem a alteração na superfície, influenciando a aceitação dos consumidores. Mancini e Hunt (2005)

afirmaram que, no Brasil, a preferência pela cor da carne pode ser uma questão cultural e os consumidores consideram que a carne vermelho brilhante está relacionada a carne de melhor qualidade.

Segundo Pardi et al. (2001) a cor da carne é definida principalmente pela quantidade de mioglobina e, em menor grau pela hemoglobina, que em sua maioria foi retirada durante a etapa de sangria. A mioglobina e a hemoglobina são proteínas que apresentam um grupo proteico heme, onde tem porfirinas e  $Fe^{3+}$ . O  $O_2$  se complexa neste núcleo conferindo a cor vermelha vivo da carne, chamada de oximoglobina. Para tanto, a mioglobina retém o oxigênio nos tecidos musculares estabelecendo cor a estes e a hemoglobina é responsável pelo transporte de oxigênio na corrente sanguínea (CARVALHO & MANÇO et al., 2010). Portanto, a cor da carne indica a concentração de mioglobina e seu estado de oxigenação ou oxidação na superfície do músculo.

Carvalho & Manço (2010) concluíram que a quantidade de mioglobina varia de acordo com a espécie, idade, sexo, músculo e atividade física. Aberle et al. (2001) e Cornforth & Pearson (1994) por sua vez, afirmaram que o conteúdo de mioglobina de diferentes espécies é influenciada pela proporção entre os tipos de fibras vermelhas, intermediárias ou brancas, ocorrendo variações inclusive dentre os músculos de uma mesma carcaça e também pelo nível de sangria do animal no abate. Alguns músculos são mais solicitados do que outros e apresentam maior proporção de fibras vermelhas do que brancas. Ramos & Gomide (2009) afirmaram que bovinos terminados a pasto se exercitam mais e, geralmente, são abatidos mais velhos, por isso, sua carne tem maior concentração de mioglobina, e consequentemente, maior saturação da cor vermelha do que animais confinados. Estes autores ainda ressaltam que a carne de animais mais velhos também tem maior concentração de mioglobina, quando comparada à de novilhos e novilhas.

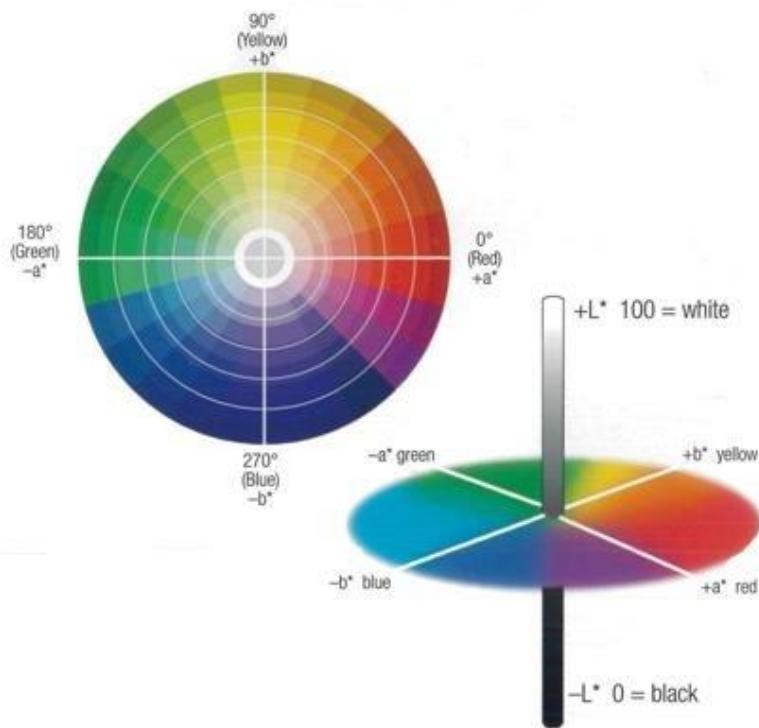
A molécula de mioglobina é formada por uma porção proteica, a globina, que é dobrada em oito segmentos helicoidais em torno do grupo heme, de natureza não proteica, tendo como um dos constituintes o átomo de ferro ligado com os átomos de hidrogênio. O ferro por sua vez, pode encontrar-se no estado reduzido ( $Fe^{2+}$  ou ferroso) ou oxidado ( $Fe^{3+}$  ou férrico). O  $Fe^{3+}$  está presente na molécula de metamioglobina (MetMb), de tom pardo, podendo o átomo de ferro combinar-se com outras moléculas, dentre elas a da água, originando a mioglobina (Mb) ou ferromioglobina, de tonalidade púrpura, de baixa luminosidade, ou ainda pode compartilhar elétrons como oxigênio molecular, formando a oximoglobina ( $MbO_2$ ), de espectro de absorção correspondendo ao vermelho vivo, de maior luminosidade. Portanto, as carnes frescas possuem a cor vermelho e brilhante, devido à grande presença da oximoglobina (Figura 4), que é resultado da combinação do oxigênio com a mioglobina (FELÍCIO et al., 1999; ORDÓÑEZ et al., 2005).



**Figura 4.** Estado químico das mioglobinas (Fonte: Adaptado de Sarantópulos e Pizzinato, 1990)

Martinez et al. (1999) cita que a exposição da carne à oxigenação é desejável pois confere um tom mais agradável ao consumidor quando comparado aos cortes cárneos embalados à vácuo. John et al. (2005) ainda ressalta que apesar da alteração da cor da carne embalada à vácuo, está ainda possui a vantagem de estar num ambiente anaeróbio o que inibe o crescimento de inúmeras bactérias, retarda a auto oxidação da fração lipídica e consequentemente, eleva a validade comercial.

Os parâmetros utilizados na avaliação da cor da carne baseiam-se no sistema colorimétrico denominado CIELab (Figura 5), siglas composta pelas iniciais da comissão que estabeleceu o sistema (The Commission Internationale de L'Eclairage, em 1976 e suas escalas de cor como a luminosidade, representada pela letra L\*; teor de vermelho, representado por a\* e teor de amarelo, representado por b\* (GAYA & FERRAZ, 2006).



**Figura 5.** Sistema colorimétrico CIELab color space (Fonte: [https://www.researchgate.net/figure/CIELAB-Color-Space-adopted-from-wwBonlalumcom-On-the-other-hand-the-study-used\\_fig1\\_332013468](https://www.researchgate.net/figure/CIELAB-Color-Space-adopted-from-wwBonlalumcom-On-the-other-hand-the-study-used_fig1_332013468))

### 2.3.2. Capacidade de retenção de água (CRA)

A Capacidade de Retenção de Água é definida como a capacidade da carne reter água diante à aplicação de forças externas como aquelas vindas do corte, cozimento, prensagem, centrifugação e Trituração (RAMOS & GOMIDE, 2009; FONTES, 2013; PINHEIRO et al. 2007). As perdas por cozimento são as que ocorrem durante o processo de preparo da carne para o consumo e é determinada pela diferença de peso antes e depois do cozimento, através da pesagem inicial do bife e da final, expressa em porcentagem (PEREIRA, 2006). Sá et al. (2004), relatou que a perda de peso por cozimento corresponde à perda de água ou suco cárneo que ocorre durante a exposição da carne ao calor da cocção. É um fator importante por alterar a sua aceitação, visto que pode influenciar significativamente a cor e textura, além do valor nutritivo, pois no suco perdem-se proteínas solúveis, vitaminas e minerais.

De acordo com Bressan et al. (2001), o mercado consumidor, atualmente, apresenta elevada exigência quanto à qualidade das características sensoriais da carne, o que torna necessário o conhecimento deste estudo. De acordo com Ramos & Gomide (2009) e Fontes et al. (2013), quanto maior for o CRA da carne, menor será a perda por gotejamento e evaporação, logo, maior a suculência e maciez, ou seja, a perda por descongelamento interfere diretamente no produto final. Além disso, há menores perdas de nutrientes hidrossolúveis. Mais uma vantagem das carnes com alta CRA e pH próximo a 5,8, é que a mesma, indica a presença de proteínas sem alteração de conformação estrutural, mais solúveis, com alta funcionalidade, com maior capacidade emulsificante e consequentemente com qualidade superior. A capacidade de retenção de água é um dos parâmetros de extrema importância para definição da qualidade da carne e consequentemente do bom aproveitamento deste produto.

### 2.3.3. Maciez e força de cisalhamento (FC)

De acordo com Roça (2000), a textura dos alimentos é um parâmetro sensorial que possui os atributos primários: maciez, coesividade, viscosidade e elasticidade; secundários: gomosidade, mastigabilidade, suculência, fraturabilidade e adesividade; e residuais: velocidade de quebra, absorção de umidade e sensação de frio na boca.

A maciez é o principal quesito de avaliação ou apreciação por parte do consumidor, inclusive, podendo suplantar aspectos como uma cor não muito agradável (atrativo). Este atributo juntamente com a cor é um fator extremamente importante para o consumidor julgar a qualidade (RAMOS & GOMIDE, 2009). O termo “tenderness” é utilizado na avaliação de medidas de resistência física à compreensão ou cisalhamento e qualificação da resistência à mastigação (FELÍCIO, 1999).

O processo de amaciamento da carne está relacionado com as enzimas proteolíticas que estão presentes em lisossomos e outras organelas, no sarcoplasma e no líquido intercelular (MALINOWSKA-PAŃCZYK & KOŁODZIEJSKA, 2018). De acordo com Ashie & Simpson (1996), para os mamíferos, dois sistemas enzimáticos proteolíticos estão implicados, as calpaínas e as catepsinas.

No entanto, as catepsinas estão presas em corpos lisossômicos e sua participação na maturação da carne requer liberação para o citosol (GOLL, 1983), enquanto as calpaínas são proteases endógenas, dependentes dos íons  $Ca^{+2}$ , que são armazenados no retículo sarcoplasmático (QUALI, 1992). A liberação das catepsinas ocorre durante o armazenamento de carne com a queda do pH (ETHERINGTON, 1992). Contudo, foi sugerida uma cooperação entre ambos os sistemas para resultar na maturação da carne (MOELLER et al., 1976; SARGIANOS et al., 1996).

Os lisossomos contêm, entre outras proteases, um grande número de catepsinas que foram sugeridas, especialmente as catepsinas B e L, para desempenhar um papel no amaciamento de carne pós-mortem (QUALI, 1990). No entanto, seu efeito depende do grau de degradação das membranas lisossômicas e da liberação da enzima no citosol. A lise das membranas de lisossomo por alta pressão foi demonstrada por diversos autores (ELGASIM & KENNICK, 1982, OHMORI et al., 1992 e HOMMA et al., 1994) e que esta ruptura está relacionada com o aumento da atividade das enzimas (OHSUMI et al., 1983).

As catepsinas são classificadas, de acordo com a densidade, em B, L e D, sendo esta última responsável pela proteólise da F-actina, possuindo maior atividade em pH entre 3 e 4 e temperatura ótima elevada, em torno de 40°C (BARRETT & KIRSCHKE, 1981; YAMASHITA & KONAGAYA, 1992).

Hwang et al. (2004) relataram que quanto maior a temperatura fornecida ao músculo, maior a liberação de  $Ca^{+2}$  no sarcoplasma, e consequentemente, mais rápida a proteólise, comprovando a importância das calpaínas no processo amaciamento da carne, além de demonstrarem uma relação linear entre diminuição de pH e aumento de cálcio livre. De acordo com Delbarre-Ladrat et al. (2004), a atividade das calpaínas no músculo após o abate é influenciada por vários fatores como o declínio do pH, pH final, concentração de íons de  $Ca^{+2}$ , teor de seu inibidor endógeno específico, as calpastatinas, além de sua própria inativação por desnaturação. Portanto a interação desses fatores determina a taxa de extensão de degradação da estrutura miofibrilar por esse grupo de enzimas. Segundo Christensen et al. (2000; 2004), as calpaínas atuam em pH elevado, em torno de 7,5, sendo responsáveis pela degradação da estrutura miofibrilar no início do período *post mortem*, enquanto as catepsinas teriam menor participação, por apresentarem valor de pH ótimo de 5,6, quando o processo de resolução do rigor já teria se iniciado.

Neste contexto, sugere-se que o amaciamento ocorre devido às alterações do tecido da carne induzidas por enzimas e reações bioquímicas, sendo enzimas como catepsina (B, H, L e D), calpastatina, m-calpaína e  $\mu$ -calpaína envolvidas nesse processo (JUNIOR, et al., 2017).

O processo de alta pressão hidrostática pode ser uma ferramenta útil, quer seja por proporcionar aumento da atividade enzimática, maior exposição da enzima ao substrato, ou por mudanças conformacionais nas proteínas (MA & LEDWARD, 2013). Os fenômenos especificamente envolvidos nestes processos são os seguintes: liberação de catepsina presente em lisossomos (HOMMA, et al., 1994), ativação de calpaínas e catepsinas até 150 MPa (LANCIOTTI et al., 2004); e inativação da calpastatina, que são inibidores das calpaínas (MA & LEDWARD, 2013). Nishiumi (2017) afirma que o amaciamento que acompanha a maturação da carne *não pressurizada* é causado por debilidade da linha Z, dissociação do filamento de actina e filamento de miosina, degradação da conexão que liga o filamento de miosina com a linha Z, além do enfraquecimento da estrutura fibrilar ser devido ao enfraquecimento do tecido conjuntivo muscular. Por outro lado, a pressão muda a conformação das proteínas, induz a dissociação de sua estrutura e causa a desnaturação de moléculas proteicas.

A maciez da carne pode ser medida por meio de um equipamento como o texturômetro, em que se mede a força necessária para o cisalhamento de um corte transversal na carne, ou por meio do método sensorial, em que se utiliza um grupo de consumidores que classificam a carne em relação à maciez após terem provado as amostras; ou ainda, utilizando um painel sensorial treinado que atribuem notas homogêneas sobre determinado produto. Quanto maior for a força utilizada para o cisalhar, menor será a maciez apresentada pelo corte da carne (ALVES et al., 2005; RAMOS & GOMIDE, 2009; LIMA JUNIOR et al., 2011).

De acordo com Alves et al. (2005), os métodos objetivos que expressam a maciez ou o grau de dureza em valores objetivos com unidades conhecidas como kg, kgf ou N (Newtons), obtidos por meio de equipamentos é a força de cisalhamento e o índice de fragmentação miofibrilar que são técnicas usadas para avaliar a maciez das carnes (ANDRADE et al., 2010). Segundo os mesmos autores, valores elevados para a força de cisalhamento correspondem a maior força necessária para romper a amostra, enquanto os valores mais elevados do índice de fragmentação miofibrilar indicam maior fragmentação da ultraestrutura da carne, ou seja, maior maciez. A maioria dos estudos de força de cisalhamento são conduzidos utilizando-se um texturômetro acoplado a uma célula Warner Bratzler® que simula a força de mastigação da carne assada. Boleman et al. (1997) classifica a maciez da carne de bovinos em muito macia (2,3 a 3,6 kgf), maciez moderada (4,1 a 5,4 kgf) e pouco macia (5,9 a 7,2 kgf).

## 2.4. Ferramentas Analíticas para Avaliação da Carne

### 2.4.1. Ressonância magnética nuclear (RMN)

A ressonância magnética nuclear RMN é uma técnica de química analítica e tem aplicação em diversas áreas como: medicina, agricultura, alimentos, petroquímica e outras (BONAGAMBA et al., 2005). Esta técnica se divide em alta e baixa resolução. A RMN de alta resolução é uma técnica mais refinada do que a de baixa resolução e serve para realizar estudos baseados, por exemplo, em estrutura química. Já a RMN de baixa resolução no domínio do tempo é usada diretamente em análises quantitativas ou qualitativas e se caracteriza por um decaimento exponencial que é relativo aos tempos de relaxação do sistema e a baixa homogeneidade do campo magnético (AZEREDO et al., 2003).

As principais vantagens da utilização desta técnica sobre os métodos convencionais de análise química são: rapidez da análise, não destruição das amostras e possibilidade de realizar análises em tecidos vegetais “in vivo” (COLNAGO et al., 1996). Além disso, através da RMN pode-se analisar até 20 mil amostras por hora se o sistema for automatizado.

A utilização da RMN é eficiente no controle de qualidade de alimentos, não somente pelos resultados que esta análise pode gerar, mas também por ser uma técnica rápida e não-destrutiva. A RMN tem sido realizada desde a década de 60 através da análise, em baixo campo, de óleos em sementes, para estudar a água presente no tecido muscular e posteriormente sendo utilizada pela indústria de chocolate e manteiga, na determinação do teor de gordura sólida, bem como na determinação de água e óleo em alimentos frios, no estudo de vegetais, caracterização da estrutura muscular da carne bovina e no controle de qualidade de cervejas (GUNASEKAREN, 2001).

Diversos trabalhos relatam a utilização desta técnica para estudar o efeito do pH em carnes de suínos no rigor *post mortem* (RENOU et al., 1989), tratamento térmico em carnes de diversas espécies (LEE et al., 1992; MICKLANDER et al., 2002; BERTRAM et al., 2006), previsão de capacidade de retenção de água, teores de gordura e água (BRONDUM et al., 2000; SORLAND et al., 2004), comportamento da água frente à maturação e cozimento de carne suína (WU et al., 2006; STRAADT et al., 2007) e mais recentemente, qualidade de carne bovina (PEREIRA et al., 2013; SANTOS et al., 2014).

Na área da ciência da carne, as medidas de RMN podem ser utilizadas na determinação da distribuição de gordura intramuscular e na mudança de distribuição da água no músculo *pós-mortem* devido existir uma alta correlação entre determinações de T2 (tempo de relaxação transversal ou spin-spin) da água e propriedades como pH, rendimento de cozimento e capacidade de retenção de água (RENOU et al., 1985). Ou seja, visto que o músculo esquelético é constituído de aproximadamente 70 a 75% de água e as propriedades físicas da mesma são importantes para a sobrevivência e funcionalidade do músculo vivo no processo pós-mortem, a RMN merece destaque como técnica que proporcione a avaliação da qualidade da carne.

Bertram et al. (2004) utilizaram as medidas de RMN de baixo campo como técnica de Carr-Purcell-Meiboom-Gil (CPMG) em músculos durante o período de 15 minutos, 85 minutos e depois de 24 horas pós-mortem a fim de observar a mudança de distribuição da água no músculo de suínos, sendo estes animais expostos a 2 níveis de estresse antes do abate. Estes autores observaram uma interação entre o pH e a força iônica e que o conteúdo de água da amostra aumenta significativamente com o aumento do pH e a força iônica. Além disso, o tempo de relaxação T<sub>2</sub> aumentou com o aumento do pH e a força iônica, no qual revela que o aumento da retenção de água pode ser atribuído ao inchaço das miofibrilas e desse modo aumenta o espaço entre os filamentos. Com isso, o estudo de relaxometria pode ser aplicado ao estudo das propriedades da água de extração miofibrilar e assim melhorar o entendimento das mudanças dos fatores do pH e força iônica. Portanto, estes autores, concluíram que tais fatores afetam a capacidade de retenção de água e a capacidade de ligação de água em produtos cru e com tratamento de calor.

Bertram et al. (2006b) analisaram os efeitos da qualidade de carne suína fresca em relação à temperatura de congelamento (-20°C até -80°C) e a duração da estocagem no freezer (30 meses) na mudança e na distribuição da mobilidade da água da carne com pH normal (5,6) e pH alto (5,8), usando relaxometria de T<sub>2</sub> em RMN de baixo campo. A relaxação transversal, T<sub>2</sub> foi medida usando a sequência de pulsos de CPMG. Estes autores concluíram que a qualidade da carne fresca (pH final) foi afetada pela mobilidade e distribuição da água tanto na carne congelada que posteriormente foi descongelada, como na carne cozida, e isto se refletiu posteriormente nas perdas de peso por descongelamento e por cozimento. Além disso, também observaram que a combinação do uso de um congelamento rápido com o armazenamento (em freezer) a longo prazo, perturba a distribuição de água no interior da carne devido ao dano severo induzido pela congelação da carne que resultou no aumento das perdas por descongelamento e perda por cozimento em comparação com a combinação de um congelamento lento e armazenamento de congelamento a longo prazo.

Bertram et al. (2005) usaram a RMN de baixo campo para estudar a relação entre a temperatura de cozimento, distribuição de água e atributos sensoriais. Eles observaram que as medidas de  $T_2$  medido pela sequência de pulsos de CPMG, estão altamente correlacionadas com atributos sensoriais de carne suína cozida nas temperaturas de 62 e 75 ° C. O estudo também demonstrou que a maior suculência e maciez é obtida em 75° C do que em 62 ° C.

Bertram et al. (2006) realizaram um estudo combinado a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e medida de  $T_2$  por RMN em baixo campo utilizando como amostras de carne suína com pH normal e pH alto, para caracterização da mudança das estruturas das proteínas miofibrilares e propriedades e propriedades físico-químicas, durante o cozimento de 28°C a 81°C. Para medir o tempo de relaxação transversal  $T_2$  foi utilizada a sequência de pulsos de CPMG. Foram observadas mudanças pronunciadas na propriedade da água e na organização estrutural das proteínas durante o cozimento à 81°C.

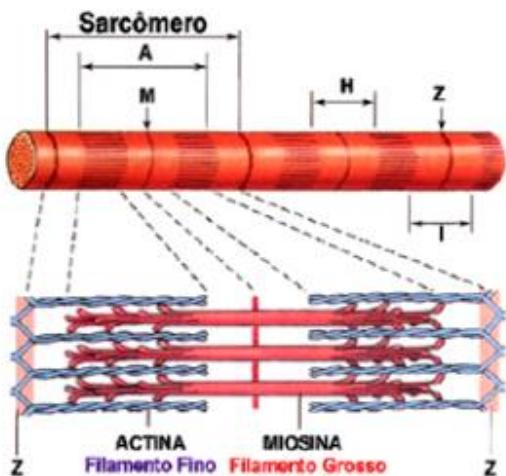
Bertram et al. (2006a) estudaram a combinação entre as medidas de RMN em baixo campo ( $T_2$ ) com medidas simultâneas de Differential Scanning Calorimetry (DSC) e concluíram que o método de RMN proposto para quantificação de gordura e presença de água na carne é uma alternativa segura, rápida e precisa em relação à outros métodos. Além disso, o teor de água pode ser medido também em sistemas não contendo açúcar, usando um tempo experimental total de aproximadamente 1 minuto (Resonance Instruments Ltd., 2002).

Bertram et al. (2006a) investigaram a relação entre a desnaturação térmica das proteínas da carne e as alterações induzidas pelo calor nas características da água utilizando amostras de carne de suínos pré-aquecidos em nove temperaturas entre 25 e 75 ° C. O estudo destes autores foi realizado através da combinação da ressonância magnética nuclear (RMN) simultânea com relaxometria  $T_2$  e calorimetria exploratória diferencial (DSC). A análise de componentes principais (PCA) nos dados de relaxação de RMN distribuídos revelou que as principais mudanças nas características da água durante o aquecimento ocorrem entre 40 e 50 ° C. Isto provavelmente foi iniciado devido à desnaturação das cabeças de miosina, que não puderam ser detectadas nos termogramas DSC obtidos diretamente na carne. Em contraste, os termogramas DSC revelaram transições endotérmicas a 54, 65 e 77 ° C, provavelmente refletindo a desnaturação das proteínas sarcoplasmáticas de miosina (bastonetes e cadeia leve), juntamente com colágeno e actina, respectivamente. Através da modelagem simultânea de dados de DSC e RMN por regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR) identificou-se correlação entre a desnaturação de bastões de miosina e cadeias leves a ~53-58 ° C e mudanças induzidas pelo calor na água miofibrilar (tempo de relaxamento  $T_2$  ~10–60 ms) bem como entre a desnaturação da actina a aproximadamente 80 a 82 ° C e a expulsão da água da carne. Nesse sentido, o estudo demonstrou que há relação direta entre a desnaturação térmica de proteínas específicas / estruturas proteicas e alterações induzidas pelo calor na mobilidade da água durante o aquecimento da carne suína.

Apesar das inovações na análise de alimentos, a indústria alimentícia se beneficia com o desenvolvimento de métodos rápidos. Para tanto, a RMN de baixo campo é um método que determina o conteúdo de água e de gordura simultaneamente. Embora a RMN seja uma ferramenta importante para elucidar resultados de pesquisas, deve-se lembrar que o custo dos equipamentos ainda é um limitante para seu uso.

#### **2.4.2. Comprimento de sarcômero e microscopia de força atômica (MFA)**

A estrutura do sarcômero é vital para a aparência estriada da fibra muscular. As estrias são periódicas e surgem com bandas densas (Banda A) ou bandas menos densas (Banda I) na miofibrila. A divisão das bandas I são linhas escuras conhecidas como linhas Z e a distância entre as linhas Z é o comprimento de sarcômero (HUFF-LONERGAN et al., 2010) (Figura 6).



**Figura 6.** Esquematização da fibra muscular, sarcômero e suas unidades funcionais (Fonte: <https://questoesdefisiocomentadas.wordpress.com/tag/sarcomero/>)

Sarcômero é, portanto, uma unidade básica do músculo esquelético, e o seu comprimento é definido pela distância entre dois discos Z adjacentes. A avaliação do comprimento de sarcômero para carnes tem importância em condições que predispõem o encurtamento pelo calor (*heat shortening*) ou pelo frio (*cold shortening*). Para bovinos, o *cold shortening* tem maior importância devido à ocorrência associada ao abate e resfriamento imediato das carcaças. O encurtamento pelo frio ocorre quando baixas temperaturas no pré-rigor induzem a contração muscular mais intensa (HUFF-LONERGAN et al., 2010; PURCHAS, 2014). Considera-se que pode ocorrer encurtamento pelo frio quando o pH muscular está maior que 6,0 e a temperatura está menor que 10 °C (HONIKEL et al., 1986; HONIKEL, 2014). É importante ressaltar que a baixa taxa de acidificação e alta proporção de fibras vermelhas na musculatura de bovinos, o torna suscetível ao encurtamento pelo frio (HUFF-LONERGAN et al., 2010; LAWRIE & LEDWARD, 2006).

O comprimento de sarcômero *pós-rigor*, em condições normais é dependente de fatores como por exemplo, a raça do animal, mas geralmente, sua medida está entre 1,8 a 2,0 µm no músculo *M. longissimus*. Abaixo destes valores, caracteriza-se o encurtamento causado pela contração muscular. Por outro lado, bovinos de origem europeia possuem carne mais macia quando comparados à Zebuíños e consequentemente, possuem maior comprimento de sarcômero.

Dependendo das condições de resfriamento, a redução do comprimento do sarcômero pode ser alcançado em valores próximos à 50% (HONIKEL, 2014). Quanto menor o comprimento de sarcômero, mais dura a carne se torna. No entanto, esta relação não é linear. O encurtamento excessivo, acima de 40% pode causar dano estrutural no sarcômero e resultar em melhoria da maciez (MARSH et al., 1974; SMULDERS et al., 1990; PURCHAS, 2014). Portanto, pode-se afirmar que o comprimento de sarcômero tem forte impacto na maciez.

De acordo com Honikel (2014), o encurtamento de 30% no sarcômero do *M. longissimus dorsi* de bovinos pode aumentar em duas vezes a força de cisalhamento. Davey & Gilbert (1976) observaram que houve maior impacto na maciez deste músculo em carnes que foram tratadas com resfriamento rápido, provocando força de cisalhamento três vezes maior quando comparada ao resfriamento adequado. Devine et al. (1999) relataram ter alta correlação entre comprimento de sarcômero e força de cisalhamento, e este fator foi observado em tratamentos que provocaram variação significativa do comprimento de sarcômero. Smulders et al. (1990) observou redução de 0,20 µm no comprimento de sarcômero no *M. longissimus* (de 1,80 para 1,60 µm) e este fato, acarretou decréscimo de quase 3 pontos (1-9) no escore de maciez. Para

minimizar estes efeitos, é preconizado o abate de animais com espessura de gordura subcutânea de no mínimo mediana, ou seja, maior que 3 mm (BRASIL, 2004). Esta estratégia reduz a susceptibilidade ao encurtamento pelo frio e previne maiores danos a maciez (PFLANZER & FELÍCIO, 2009; SAVELL et al., 2005). De acordo com Lawrie & Ledward (2006), o encurtamento pelo frio pode ser evitado ao assegurar temperaturas entre 10 a 15 °C até o estabelecimento do *rigor mortis* ou pH menor que 6, e gordura subcutânea com espessura acima da mínima preconizada (>3mm). Portanto, ao atender estas recomendações de resfriamento e espessura de gordura subcutânea poucas variações são observadas no músculo para o comprimento de sarcômero (STOLOWSKI et al., 2006).

Lage et al. (2009) também ressaltaram a importância de três fatores que contribuem para a maciez da carne, dentre eles o comprimento de sarcômero (quanto maior, mais macia), e conteúdo de tecido conjuntivo e indicam que músculos dianteiros do animal por possuírem maior quantidade de fibras oxidativas e de colágeno, restringem a ação das calpaínas e por isso resultam em cortes mais duros. A quantidade de gordura intramuscular, conhecida como marmoreio é outro fator importante na percepção da maciez da carne e palatabilidade.

A microscopia de força atômica (MFA) consiste em um sistema de cantiléver acoplado a um sistema de posicionamento altamente sensível e preciso, que possibilita a ponta do cantiléver percorrer superfícies de materiais coletando dados de topografia, rugosidade, rigidez, entre outras informações. A sua escala de trabalho, vai de poucas dezenas de micrômetros até, em algumas situações, atingir, dimensões de que permitem evidenciar a estrutura anatômica do material analisado (JANDT, 1998).

De acordo com Li et al. (2016), existem dois principais modos de trabalho do MFA, o primeiro é o modo denominado contato, dito como estático, em que a ponta do cantiléver percorre a amostra aplicando força constante sobre a superfície. Nas medidas realizadas em modo de contato, são obtidos dados de topografia, rugosidade e força de atrito; o segundo tem várias designações, contato intermitente, quase contato, “tapping mode”, neste modo a operação do cantiléver é colocado para vibrar no ar (pode ser em vácuo ou em meio líquido) em uma frequência próxima a sua frequência de ressonância, se aproxima da amostra e passa a tocá-la. Nesta situação ocorre a diminuição da amplitude de vibração do mesmo. A nova amplitude de vibração é utilizada pelo sistema de controle do equipamento, para percorrer a superfície coletando dados de topografia e rigidez.

Li et al. (2016), avaliou amostras de sarcômeros musculares em modo dinâmico, sendo este método suficiente para evidenciar as microfibrilas do sarcômero.

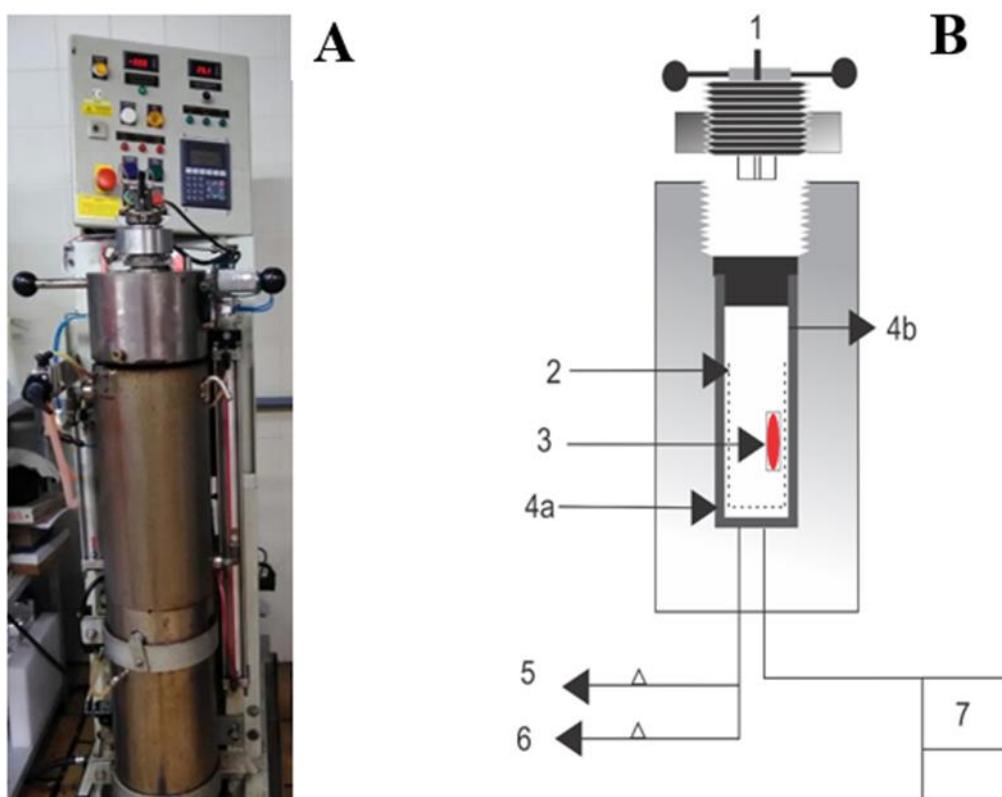
## 2.5. Uso da alta pressão hidrostática (APH) em carne

Objetivando atender as exigências dos consumidores por produtos de qualidade, diversas pesquisas, têm sido realizadas para adequar a indústria e os sistemas de produção à necessidade de oferecer um produto que atenda às expectativas do consumidor final. Para tanto, os pesquisadores têm adotado o uso de tecnologias em alimentos e seu mecanismo de ação sobre determinados produtos.

O uso da tecnologia de alta pressão hidrostática (APH) iniciou-se com pesquisas realizadas em leite, a fim de testar a inativação de bactérias presentes neste produto. Atualmente, sabe-se que a APH, diferente das demais tecnologias, é um processo não térmico, possui potencial para permitir a esterilização comercial e, consequentemente, prolongar a validade comercial dos alimentos (VARDAG et al., 1995). Em contrapartida, esta tecnologia também pode induzir mudanças relevantes na textura dos alimentos que podem ocorrer em consequência à redução de volume e de mudanças de pH (WILLIANS, 1994).

Estudos revelam que o processamento de carnes submetidas à APH tem tido boa aceitação pois esta tecnologia é capaz de preservar as características sensoriais da carne fresca e ainda causar amaciamento nos produtos cárneos. Apesar da APH e da maturação apresentarem a vantagem de amaciar a carne, os métodos de ação para que essas tecnologias atinjam este beneficiamento são diferentes. Enquanto a APH utiliza “shockwaves” (ondas de choque) de pressão para romper fisicamente a estrutura do músculo, a maturação está relacionada à degradação proteolítica das proteínas miofibrilares (BOWKER et al., 2006).

De acordo com Meyer et al. (2000), o uso de pressão evita danos de calor excessivo que ocorre na maioria dos processos térmicos. O fluido usado no recipiente de pressão tem propriedades adiabáticas e não influencia a temperatura final do alimento (Figura 7). Os fluidos utilizados no equipamento de APH são diversos, como por exemplo, água, álcool 70%, glicerol, óleos comestíveis, entre outros.



**Figura 7.** A) Foto do equipamento de alta pressão hidrostática da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos (Fonte: Arquivo pessoal). B) Esquema adaptado do piloto de alta pressão da Alstom Fluides et Mecanique (d, 120mm, h, 300mm) 1, ladrão para o excesso de água; 2, portador de amostra; 3, amostra de carne selada à vácuo; 4 a, b, circulação de água do sistema termorregulador; 5, saída de água; 6, portão de depressurização; 7, bomba de alta pressão (Fonte: Esquema adaptado de Jung et al., 2000)

Cheftel (1995) explica que dois princípios químicos regem o processo de pressurização, sendo assim, o princípio de Lé Chatelier e o princípio da pressão isostática são as bases desta tecnologia. O primeiro é aquele que diz que no final de qualquer fenômeno, de transição de fase, mudança de conformação molecular ou reação química acompanhado por uma redução de volume, é favorecido pelo aumento de pressão, e vice-versa. No caso de uma reação, a pressão alterará o equilíbrio na direção do sistema de menor volume. Barbosa-Cánovas & Rodríguez

(2002) explicam que o princípio da pressão isostática indica que a pressão é transmitida de uma forma uniforme e quase instantânea, através de uma amostra biológica.

Sabe-se que a carne é um produto altamente perecível e os consumidores adotam a maciez como parâmetro de maior importância para este produto. Koohmaraie (1996) afirma que a maturação da carne bovina requer um período de armazenamento refrigerado de vários dias e que durante este período ocorrem fenômenos físico-químicos e enzimáticos e a integridade estrutural das miofibrilas é alterada. Para reduzir o período de maturação e melhorar a sensibilidade final da carne, vários processos foram estudados, incluindo estimulação elétrica (DUTSON et al., 1980), infusão de  $\text{Ca}^{2+}$  (KOOHMARAIE et al., 1988), maturação ácida (ERTBJERG et al., 1999), e ultrassonografia (GOT et al., 1999) e recentemente a alta pressão hidrostática também foi proposta como uma nova opção de tecnologia (SUZUKI et al., 1992).

### **2.5.1. Efeito da Alta Pressão Hidrostática nas Enzimas Proteolíticas (Calpaínas, Catepsinas e Calpastatina) da Carne**

O amaciamento ocorre devido às alterações do tecido da carne induzidas por enzimas e reações bioquímicas, sendo enzimas como catepsina (B, H, L e D), calpastatina, m-calpaína e  $\mu$ -calpaína envolvidas nesse processo (JUNIOR, et al., 2017). Neste contexto, o processamento de alta pressão hidrostática pode ser uma ferramenta útil, quer pelo aumento da atividade enzimática, maior exposição da enzima ao substrato, ou por mudanças conformacionais nas proteínas (MA & LEDWARD, 2013). Nishiumi (2017) afirma que o amaciamento que acompanha a maturação da carne *não pressurizada* é causado por enfraquecimento da linha Z, dissociação do filamento de actina e filamento de miosina, degradação da conexão que liga o filamento de miosina com a linha Z, além do enfraquecimento da estrutura fibrilar ser devido ao enfraquecimento do tecido conjuntivo muscular. Por outro lado, a pressão muda a estrutura das proteínas, induz a dissociação de sua estrutura e causa a desnaturação de moléculas proteicas.

As mudanças estruturais das proteínas musculares devido à alta pressão e seu mecanismo de amaciamento vem sendo relatadas desde a década de 80 até os dias atuais por diversos grupos de pesquisas, como, Macfarlane & Morton (1978), Suzuki et al. (1990, 1992), Yamamoto et al. (1992), Cheftel (1995), Suzuki (2002), Yamamoto et al. (2005, 2007), Ikeuchi et al. (2002, 2006), Zhou et al. (2016), Nishiumi (2017), entre outros, e, com uma vasta gama de informações a tecnologia de APH tem sido elucidada cada dia com maiores detalhes.

De acordo com Jung et al. (2000), a pressão empregada, o tempo de ação e a composição média do produto, devem ser levados em consideração para estabelecer um processo eficiente baseado em tecnologia de alta pressão.

Segundo Ikeuchi et al. (2002) e Ikeuchi et al. (2006) a estrutura miofibrilar ordenada começa a desnaturar uma pressão de aproximadamente 150 a 200 MPa ou mais, devido ao mecanismo de dissociação dos filamentos de actina e dos filamentos de miosina devido à alta pressão e causar mudança na estrutura tridimensional em consequência da despolimerização da F-actina para o actinonômero (G-actina) levando a desintegração do filamento de actina e consequentemente, o amaciamento da carne. Contudo, as proteases musculares intrínsecas, como calpaína, catepsina e proteossoma, não são inativadas pelo tratamento com alta pressão, em vez disso, a atividade enzimática aumenta sob condições de pressão apropriadas e as proteínas musculares do substrato degeneram sob tratamento com alta pressão e, portanto, a desnaturação das proteínas miofibrílicas é promovida (Kim et al., 1993 e Yamamoto et al., 2005).

Yamamoto et al. (2007) afirmam que o amaciamento de carnes durante a observação *post-mortem* causada por alta pressão tem sido geralmente atribuído a mudança conformacional nas

cadeias de proteínas miofibrilares por várias proteases endógenas, em particular pelas catepsinas.

Kubo et al. (2002) relata que a organização da membrana de lisossomos e retículo sarcoplásmico, que são organelas, é enfraquecida e destruída a alta pressão de 100 a 150 MPa ou mais e como resultado, várias enzimas degradantes armazenadas em lisossomos, particularmente catepsinas, que é uma protease ácida, migram dos lisossomos para o citosol. De acordo com Ohmori et al. (1991) e Jung et al. (2000), as atividades específicas das proteases são, sensíveis ao processamento de pressão, sendo as proteases ácidas (incluindo a catepsina D) são resistentes à alta pressão (500 MPa), enquanto que as proteases neutras e alcalinas são ligeiramente inativadas a partir de 400 MPa devido à desnaturação (RODE & HOVDA, 2016, MA & LEDWARD, 2013) e exopeptidases (tanto amino como carboxipeptidases) são prontamente inativados acima de 200 MPa. Outro fato decorrente do processo de pressurização em carnes são íons de cálcio acumulados no retículo sarcoplásmico que saem por vazamento da membrana sarcoventricular, aumentando a concentração de íons de cálcio no citoplasma e como consequência, a calpaína (uma protease ativada por íon de cálcio) é ativada (SUZUKI, 2002).

De acordo com Malinowska-Pańczyk & Kołodziejska (2018), as proteases ácidas e neutras endógenas da carne suína (com atividades ótimas a pH 6,0 e 7,0, respectivamente) foram ativadas pelo tratamento de alta pressão, havendo um aumento da atividade em 66 e 36%, respectivamente, com aumento de pressão até 193 MPa. Alguns autores apontaram que a ativação de proteases neutras e alcalinas (calpaínas) em carne pressurizada pode ser induzida por uma crescente concentração de cálcio no citosol como resultado da ruptura do retículo endoplasmático e das mitocôndrias (CHERET et al., 2007a). Em contraste, Grossi et al. (2012) mostrou que a atividade de  $\mu$ -calpaína no músculo *longissimus* em carne de porco diminuiu em 15 e 80% após a pressurização a 50 e 100 MPa, respectivamente. No entanto, a atividade de m-calpaína quase não foi afetada nestas condições. A inativação completa de m- e  $\mu$ -calpaína foi alcançada em 200 MPa (GROSSI et al., 2012).

Curl et al. *apud* por Hendricky et al., (1998), utilizou pressões de aproximadamente 100 MPa para avaliar a ativação de algumas enzimas e relatou que esta estimulação é observada em enzimas monoméricas e que tal fato foi devido possivelmente ao desnívelamento e à posterior reestruturação, levando a maior exposição do sítio ativo e ao incremento da atividade dessas enzimas. Este autor ainda afirma que pressões acima de 100 MPa, geralmente, induzem a inativação enzimática. Patrizia & Giovanni (2002) *apud* Zhou et al. (2016) relataram que, após a carne receber tratamento de alta pressão, a atividade da calpaína no tecido muscular aumentou, a taxa de proteólise foi acelerada, o sarcômero foi danificado e a estrutura do tecido muscular mudou até certo ponto resultando na melhoria de maciez da carne.

Homma et al. (1995) relataram que a alta pressão pode afetar a atividade dos inibidores das enzimas, mostraram a diminuição dos níveis de calpastatina, um inibidor das calpaínas, após a pressurização. Hugas et al. (2002) expõe que a calpastatina é inibida por 200 MPa enquanto as calpaínas são degradadas acima de 400 MPa e que a pressões inferiores a 200 MPa as enzimas lisossomais (catepsinas) aumentam a atividade autolítica e o amaciamento da carne é maior. O efeito da alta pressão sobre a atividade da calpaína depende de vários fatores: a faixa de pressão, a atividade da calpastatina nestas condições e as alterações nas proteínas musculares, índice de fragmentação de miofibrilas (MALINOWSKA-PAŃCZYK & KOŁODZIEJSKA, 2018). Com pressões moderadas (100-150 MPa), a atividade da calpaína na carne de coelho e badejos permanece praticamente inalterada (CHERET et al., 2005; HOMMA et al., 1995), no entanto, esses autores verificaram que, nessas condições, ocorre a desnaturação das proteínas miofibrilares, o que aumenta a sua susceptibilidade à hidrólise enzimática. Já a uma pressão mais alta - acima de 300 MPa - a atividade da calpaína em badejos, salmões e carne de coelho

aumenta drasticamente (CHERET et al., 2007a; HOMMA et al., 1995; LAKSHMANAN et al., 2005).

Em estudo realizado por Homma et al. (1994), foi observado que as atividades das catepsinas B, D e L aumentaram gradualmente com o aumento da pressão até 400 MPa, depois diminuíram a 500 MPa por 5 minutos à 2°C em 17%, 75% e 20%, respectivamente. Até 100 MPa, as atividades de catepsina H não diferiram do controle e em pressões superiores a 100 MPa foi observado diminuição gradual com o aumento da pressão e quando foram submetidas ao tratamento com pressão de 500 MPa por 5 minutos à 2°C apresentaram um decréscimo de 85%. Contudo, diante desses resultados, não ficou claro se as próprias enzimas tiveram uma maior atividade proteolítica ou se a quantidade de enzima presente na fração solúvel no extrato bruto foi aumentada pelo tratamento com pressão. Dessa forma, estes mesmos autores investigaram o efeito da pressão sobre a própria enzima, observaram que todas as enzimas perderam sua atividade enzimática à medida que a pressão aplicada aumentava e ainda que, o grau de perda foi dependente da enzima. Portanto, o aumento das atividades relativas da catepsina B, D e L neste estudo, não se deveu a um aumento na atividade enzimática, mas a um aumento no conteúdo do extrato, sendo este fato explicado pelas catepsinas serem enzimas existentes no lisossoma e o aumento do conteúdo da enzima ter sido derivado do vazamento da enzima em consequência à ruptura da membrana do lisossomo pelo tratamento à pressão. Por outro lado, as catepsinas H não eram resistentes à pressão e por isso, foram inativadas pelo tratamento de pressão antes do aumento da quantidade. A partir desses resultados os autores concluíram que o aumento induzido pela pressão na quantidade de atividade da protease no músculo era devido à liberação das enzimas a partir dos lisossomos e que isto poderia resultar em amaciamento de carne, juntamente com outras proteases, como as calpaínas.

Ohmori et al. (1992) relatam que o aumento da liberação de enzimas dos lisossomos, aumenta a atividade específica, como mostrado em 100 MPa para catepsina D e 200 MPa para catepsinas B e H, no caso de aplicação de pressão para os lisossomos isolados do fígado bovino. Montero & Go'mez-Guille'n (2002) por sua vez, afirmaram que as catepsinas H são inativadas a partir de 200 MPa e a catepsina D é inativada quando a pressão atinge 500 MPa. Dessa forma, cabe ressaltar que algumas alterações bioquímicas que ocorrem na carne devido à alta pressão hidrostática incluem a inativação da catepsina B, H e L (> 500 MPa), catepsina D (> 300 MPa) (CHÉRET et al., 2005; CHÉRET et al., 2007, HUGHES, 2014).

Diante de estudos realizados por Jung et al. (2000a) observou-se que as atividades de catepsina D aumentaram progressivamente para pressões inferiores a 170 MPa em tratamentos de menor duração, mas ainda permaneceram menores do que o controle. Para maiores pressões, observou-se um aumento acentuado da atividade da catepsina D, onde os valores mais altos ocorreram a uma pressão de 500-600 MPa por curtos tempos (menos de 200s). Estes autores concluíram que através de análises microscópicas, ficou claramente estabelecido que a alta pressão modificou a integridade da membrana de parte dos lisossomos e que o aumento da atividade enzimática lisossômica pode resultar em amaciamento de carne.

Buckow et al. (2010) estudaram a atividade das proteases na carne utilizando pressão e temperatura combinadas, e observaram que a aplicação de alta pressão teve o potencial de alterar a estabilidade e a atividade catalítica da catepsina D. Contudo, a ativação da enzima foi acelerada com aumento de pressão ou da temperatura, e seu maior ponto de estabilidade foi alcançado a 100 MPa, mesmo em altas temperaturas. A atividade catalítica da catepsina D aumentou com a temperatura, mas diminuiu drasticamente com a pressão.

Homma et al. (1995, 1996) avaliaram os efeitos da alta pressão hidrostática nas atividades das proteases  $\mu$ -calpaína, m-calpaína e calpastatinas em carnes de coelhos e observaram acima de 100 MPa os níveis de calpaína apresentaram discreta diminuição com o aumento da pressão, mas, à 300 MPa por 5 minutos à 2°C, os níveis foram muito reduzidos, sendo estes, 98%, 92% e 95,7%, respectivamente, enquanto as atividades das catepsinas se mostrou aumentada. As

amostras pressurizadas, assim como as amostras controle, obtidas de extratos, foram submetidas a cromatografia líquida de alta eficiência, onde foi observado que calpaínas e calpastatinas foram inativadas diante do aumento crescente de pressão. Contudo, as calpastatinas foram inativadas a 100 MPa enquanto as calpaínas resistiram a alterações até a pressão de 200 MPa. Portanto, verificou-se que, a APH aumentou a liberação de catepsinas lisossomais e como decorrência, houve um aumento de suas atividades no músculo, bem como o aumento das atividades das calpaínas pela liberação de  $Ca^{+2}$  do retículo sarcoplasmático e a inativação de calpastatina. Em consequência da pressurização da carne à 200 MPa e seus efeitos nas enzimas proteolíticas, deu-se o amaciamento da carne.

Segundo Cheftel & Culoli (1997), a atividade da calpaína pode ser aumentada pela liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático e das mitocôndrias, pela desnaturação da calpastatina e por modificações de substratos proteicos, tornando-os mais suscetíveis à proteólise. Como a alta pressão induz modificações na estrutura do sarcômero, em particular as linhas Z, as bandas M e I que são semelhantes às obtidas pela incubação de miofibrilos com calpaínas (BOUTON et al., 1977; MACFARLANE & MORTON, 1978; SUZUKI et al., 1990; 1992), a atividade global de calpaínas poderia ser aumentada pelo tratamento de pressão. Estes mesmos autores afirmam que a catepsina D começa a ser inativada a 100 MPa, mas ainda está ativo (30%) a 500 MPa, enquanto as catepsinas B e H, embora sensíveis a uma pressão superior a 200 MPa, mantêm pelo menos 50% de sua atividade após o processamento a 500 MPa. Jin et al. (2001) por sua vez, observou que a atividade das calpaínas foi reduzida em 250 MPa por 10 minutos à temperatura ambiente.

Jung et al. (2000a, 2000b) observaram um aumento na atividade das catepsinas na carne bovina pressurizada à 520 MPa, o que foi mantido durante todo o processo de maturação. No entanto, tal incremento de atividade não refletiu na melhoria da carne ou em maior velocidade de maturação. O amaciamento da carne foi atribuído às modificações no estado de contração e nos componentes miofibrilares sob efeito da pressão.

A perda de atividade de calpaínas em alta pressão ocorre devido a modificações estruturais e dissociação da forma heterodimérica da proteína (CHERET et al., 2007), enquanto Homma et al. (1995) sugeriu a possibilidade de autólise. A diminuição da atividade da calpaína, possivelmente, evita a degradação de proteínas miofibrilares sob alta pressão e tal possibilidade foi destacada no artigo de revisão de Campus (2010) e em um trabalho de Duranton et al. (2014).

Portanto, a mudança estrutural das proteínas constituintes musculares, o rompimento da estrutura da membrana sarcoplasmática, a ativação de enzimas endógenas intramusculares e semelhantes, estão complexamente entrelaçadas pelo tratamento de alta pressão, de modo que as miofibras são susceptíveis de serem fragmentadas e as fibras musculares também são facilmente desnaturadas, tornando a carne macia (NISHIUMI, 2017).

## 2.6. Análise do Perfil de Proteínas por Eletroforese

Proteínas são macromoléculas orgânicas, formadas por uma sequência de aminoácidos ligados covalentemente entre si e estas ligações químicas promovem estabilidade as proteínas. De acordo com Lodish et al. (2005), as proteínas são as unidades funcionais para quase todos os processos biológicos, podendo atuar como catalizadores utilizados nas reações químicas dentro dos organismos, abrangendo funções estruturais, de transporte, regulação e sinalização.

As moléculas de proteínas podem ser organizadas em estruturas primárias, secundárias, terciárias ou quaternárias. As estruturas primárias das proteínas caracterizam-se por serem arranjos de aminoácidos ligados covalentemente entre si, ou seja, é uma sequência de aminoácidos que compõe a cadeia polipeptídica. As secundárias, são aminoácidos que compõe a cadeia polipeptídica mas diferente da estrutura primária, são adicionadas de radicais que através da força atômica podem gerar torção na molécula de proteína e, portanto, mudam a

conformação molecular que em sua maioria podem ser de dois tipo: alfa-hélice, que são proteínas mais globulares e mais solúveis ou, folha-beta, que são proteínas mais fibrosas e menos solúveis como é o caso das proteínas que formam os tecidos musculares.

Diferentemente do que ocorre na estrutura secundária, onde a estabilidade é dada por ligações de hidrogênio, na estrutura terciária são adicionadas de arranjos proteicos e a estabilidade da molécula é obtida por diferentes tipos de interações, dentre elas pode-se destacar, as interações hidrofóbicas entre grupos apolares, pontes de hidrogênio entre grupos polares, pontes salinas entre resíduos ácidos e básicos e pontes dissulfeto (BORJA, 2017). Esses tipos de interações mantém as estruturas terciárias em formas regulares e compactas. Como as interações que estabilizam a estrutura terciária são fracas, essa estrutura não é rígida, conseguindo apresentar diferentes estados conformacionais (LODISH et al., 2005). Borja (2017) afirma que a estrutura terciária possui características de especial interesse, pois define a função biológica de uma proteína monomérica, além de ser o objetivo ao qual se deseja chegar com a predição de estruturas 3D partindo de uma sequência de aminoácidos.

As estruturas quaternárias são caracterizadas por serem multímeros e descrevem números e posições relativas das subunidades de proteínas. Estas proteínas multiméricas podem ser constituídas pela repetição da mesma subunidade (homoméricas) ou por subunidades diferentes (heteroméricas) (Lodish et al., 2005).

Segundo Karp (2011), a grande diversidade de funções realizadas pelas proteínas é produto do número de blocos fundamentais dos quais são compostas, os aminoácidos e cada proteína contém uma sequência única que lhe confere propriedades características. Contudo, atualmente, sabe-se que o mais aceito é que as propriedades de uma proteína devem-se, mais à sua estrutura tridimensional do que propriamente à sua sequência de aminoácidos, pois proteínas com diferentes sequências de aminoácidos podem ter a mesma função dentro dos seres vivos (WOOD et al., 2011). Assim, a determinação da estrutura 3D das proteínas despertou maior interesse que a determinação da sequência de aminoácidos para estudar sua função biológica e hoje já se sabe que a estrutura terciária é de extrema importância porque geralmente coincide com a chamada estrutura nativa, a estrutura que confere à proteína uma função biológica específica.

Cabe ressaltar que as estruturas terciárias das proteínas são essenciais para toda e qualquer função proteica, ou seja, se uma proteína perder a estrutura terciária, perderá a sua funcionalidade.

As fibras musculares são constituídas de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas. De acordo com Lana & Zolla (2016), as proteínas miofibrilares representam a maior fração do total proteínas (65 a 70%), enquanto a outra fração é representada pelas proteínas sarcoplasmáticas. A nebulina (componente menor dos filamentos finos), complexo troponina (T, C e I), tropomiosina (essencial para contração muscular), miosina e a actina são as proteínas miofibrilares sendo as duas últimas citadas, as mais abundantes, correspondendo de 50 a 58% e 15 a 20% do total de proteínas miofibrilares, respectivamente.

As proteínas podem sofrer alterações física, tecnológicas ou químicas e estas podem ser reversíveis ou não. Quando as proteínas se desenovelam e as ligações covalentes não são afetadas, diz-se que elas foram desnaturadas. Portanto, a desnaturação proteica é a modificação da forma tridimensional da proteína sem que tenha ocorrido alteração na sua estrutura primária.

A exposição das proteínas a altas temperaturas, pH extremo, substâncias químicas e tecnologias emergentes ou métodos tecnológicos combinados, pode causar a desnaturação, fazendo com que a proteína perca parcial ou totalmente a sua conformação original e consequentemente, perca a estrutura e função. O processo de desnaturação pode ser vantajoso, como é o caso da alta pressão hidrostática em carnes que desestrutura as proteínas da estrutura terciária provocando como resultado, amaciamento ao produto, ou desvantajoso quando ocorre em um organismo in vivo.

Pesquisas iniciais usando a APH foram realizadas em leite e produtos à base de frutas, sendo a principal vantagem desta tecnologia, estender o tempo de prateleira e inativar bactérias patogênicas causando pouca ou nenhuma alteração de cor, sabor e qualidade nutritiva, uma vez que as moléculas relativamente pequenas, responsáveis por essas propriedades, não são afetadas (PATTERSON et al., 2005). Para tanto, essa tecnologia tem sido usada como ferramenta capaz de dissociar diversas proteínas e nos anos 70 e 80, começou-se a estudar a ação APH em produtos à base de carne (MACFARLANE, 1973; KENNICK et al., 1980) e estes, portanto, serviram como ponto de partida para posteriores pesquisas sobre o efeito da APH em proteínas específicas ou frações proteicas (MACFARLANE et al., 1986; CHEFTEL, 1995; CHAPLEAU & LAMBALLERIE, 2003; MARCOS et al., 2005; LEE et al., 2007; SIKES et al., 2010; REALINI et al., 2011; BAJOVIC et al., 2012).

Alta pressão pode afetar a conformação de proteínas e levar à desnaturação, agregação ou gelatinização de proteínas (GROSS & JAENICKE, 1994; CHEFTEL & CULIOLI, 1997; PICOUET et al., 2012). Grant et al. (2000) afirmam que diferentes níveis de pressão, assim como diferentes níveis de temperatura e tempos de aplicação de pressão, irão proporcionar diferentes mudanças, dependendo do alimento que está sendo exposto a pressão e a composição deste. O resultado depende da suscetibilidade da proteína, da pressão aplicada temperatura e duração do tratamento sob pressão (SUN & HOLLEY, 2010).

Ricards (1979) apud Slongo (2008) mostrou, através de estudos cristalográficos, que embora as proteínas estejam altamente enoveladas, em seu interior, existem “espaços vazios”, os quais são formados pela impossibilidade de se satisfazer a distância mínima entre os átomos. Este fato explica por que a forma nativa das proteínas ocupa um volume maior do que o estado desenovelado.

Creighton (1987) e Palmieri (2005) afirmam que a pressão hidrostática age ao forçar a entrada de água no cerne proteico, o que resulta na quebra de interações fracas, e consequentemente, no desenovelamento proteico, estando a explicação de acordo com o princípio de Le Chatelier, que diz que a aplicação de pressão desloca o equilíbrio no sentido da diminuição do volume, ou seja, passa para o estado dissociado. Portanto, quando a proteína se desenovelada, o sistema proteína-solvente sofre contração de volume devido ao empacotamento dos resíduos de aminoácidos pela molécula do solvente. Dessa forma, supõe-se que, sob pressão, a água infiltra na proteína, onde as ligações fracas são desestabilizadas (FOGUEL, 1993).

Como discutido por Sun e Holley (2010) e Bajovic et al. (2012) um dos principais problemas em aplicar a APH em carne fresca, é em relação a cor pois dependendo do nível de pressão utilizado, poderá haver alteração de proteínas estruturais como a miosina e proteínas solúveis, conferindo um aspecto de carne cozida. Sikes et al. (2010) se propuseram a estudar os efeitos da APH em estruturas complexas e compostas, como a carne que constituída por água, lipídios e numerosas proteínas solúveis e fibrosas e, observaram que a dissociação de agregados de proteínas pode ter levado à solubilização de destas. Foguel (1993) por sua vez, concluiu que a APH causa desnaturação reversível nas proteínas devido este fato ter sido observado em diversas proteínas monoméricas, como a ribonuclease A e a mioglobina.

Segundo Silva & Weber (1993), a pressão força a inserção de moléculas de água entre domínios hidrofóbicos ou eletricamente carregados de maneira a promover uma redução no volume ocupado pela molécula, e este fenômeno leva ao enfraquecimento das interações iônicas e hidrofóbicas, tanto entre complexos proteicos quanto na estrutura da própria proteína.

Foguel (1993) afirmou que uma hipótese para explicar o fato de altas pressões favorecerem a dissociação de proteínas pressupõe a existência de espaços mortos no interior das mesmas, que se originam em decorrência da impossibilidade de que todos os resíduos de aminoácidos assumam os mínimos de distância intermoleculares possíveis. Já Galazka et al. (1996) afirmaram que os efeitos da APH nas proteínas estão principalmente relacionados à

ruptura de interações não covalentes nas moléculas de proteína. Portanto, pensa-se que as ligações covalentes e as estruturas primárias das proteínas não sejam afetadas pela alta pressão (HEREMANS & SMELLER, 1998). É provável que a desnaturação induzida por pressão de proteínas tenha ocorrido devido à desestabilização de interações não covalentes na estrutura terciária (CHAPLEAU et al., 2004). Mesmo que as proteínas pressurizadas retenham a maior parte de sua estrutura secundária, ocorre um pequeno grau de desdobramento, que expõe as regiões hidrofóbicas da proteína e pode levar à agregação de proteínas (CHEFTEL & CULIOLI, 1997; SIKES et al. 2010).

Scheibenzuber et al. (2002) e Mullen (2006) utilizaram géis de eletroforese unidimensional (1DE) em análises de proteínas musculares para buscar alterações nas proteínas miofibrilares e marcadores para maciez após tratamento com diferentes níveis de pressões. Estes autores verificaram que componentes de filamentos finos foram solubilizados facilmente com aplicação de pressão, contudo, a solubilização da miosina dependeu da magnitude e da duração do tratamento sob pressão aplicada. A proteólise da proteína miofibrilar troponina T e subsequente do aparecimento da banda de aproximadamente 30 KDa foi reportada como um bom indicador de proteólise e de um preditor para maciez da carne (KOOHMARAIE, 1992).

Kolczak et al. (2003) observou que ocorreu degradação da troponina T durante a maturação dos músculos e associou este fato a melhoria da maciez. Negish et al. (1996) acredita que a degradação da Troponina T possa estar relacionada às mudanças estruturais tais como o alargamento da banda I, assim como o comprimento das miofibrilas do sarcômero, o qual foi encontrado em observações microscópicas.

Okamoto & Suzuki (2002) relataram que quando aplicaram um nível de pressão dia 200 MPa em músculos, houve uma ruptura acentuada da banda I e uma perda de materiais da linha M enquanto que a 300 MPa A integridade estrutural do sarcômero era quase que completamente destruído, com os filamentos A e I Quebrados sendo espalhados sobre o sarcômero. A perda completa do filamento M e do filamento I foi bem visto , provavelmente devido ao colapso do filamento I. Macfarlane (1985) Afirma que a perda da banda I se deva a um efeito desagregador dá pressão sobre a actina e outros constituintes da banda como tropomiosina e troponina. As alterações citadas são irreversíveis, Mas como as ligações cruzadas na miofibrila são de natureza iônica, mesmo a pressões relativamente baixas (100 MPa), estas devem quebrar (MACFARLANE, 1985) mas, na ausência de outras mudanças estruturais serão reformadas quando houver a liberação da pressão reforçando este raciocínio, Ma & Ledward (2013) afirmam que o tratamento sob pressão associado ao aumento de temperatura pode romper as interações hidrofóbicas na estrutura proteica , podendo haver Desenho estabilização da ligação do hidrogênio adicional E após A liberação depressão est as estruturas poderão ser reformadas.

Portanto, diversos autores, através da eletroforese SDS-PAGE, verificaram que houve clareamento nas bandas de actina e miosina em produtos cárneos submetidos à alta pressão. Contudo, já está bem esclarecido que mesmo pressões moderadas (150 MPa) Podem fazer com que a F-actina diz polimerize (IWASAKI & YAMAMOTO, 2002). Angsupanich et al. (1999) afirmam que pressões mais altas ( $\geq 200$  MPa), a transição da actina é perdida dentro de minutos.

Yamamoto et al. (1992) realizaram estudos relacionados com a agregação de proteínas cárneas, quando submetidas às altas pressões e verificaram que as moléculas de miosina não pressurizadas apresentaram-se como monômeros e, tipicamente, apresentaram duas cabeças. Estes autores compararam esta característica com as moléculas de miosina pressurizada, verificando que, em pressões acima de 140 MPa, começaram a ocorrer mudanças na estrutura. Através de microscopia eletrônica de transmissão, estes autores verificaram que o tratamento de miosina com pressão levou a interação entre extremidades para formar oligômeros. Com o aumento da pressão, os grupamentos se compactaram e aumentaram o tamanho. Mesmo depois

da aplicação de 210 MPa por 5 minutos, as moléculas de miosina monoméricas foram ainda observadas, apesar da proporção de moléculas de miosina com apenas uma extremidade ter aumentado. Neste mesmo experimento foi verificado que tratamentos com até 210 MPa não induziram a gelatinização, e que o tratamento térmico da solução puramente pressurizada resultou em um gel com rigidez e microestrutura similar ao formado somente com tratamento térmico. Dessa maneira, os autores constataram que o tratamento com pressão, provavelmente não afetou a estrutura helicoidal original da cauda de monômeros da miosina.

Cheftel & Culoli (1997), Heremans & Smeller (1997) sugerem que as pressões acima de 200 MPa, geralmente causam dissociação de estruturas oligoméricas em suas sub-unidades; abertura parcial e de conformação das estruturas monoméricas (em muitos casos irreversíveis); e a gelatinização das proteínas, sempre que a pressão e a concentração de proteínas sejam altamente suficientes.

Scheibenzuber et al. (2002), em pesquisas realizadas com carne de suína, usaram a eletroforese SDS-PAGE para verificar as alterações nas proteínas miofibrilares após o tratamento à diferentes pressões e concluíram que o uso desta tecnologia induziu a solubilização das proteínas miofibrilares, levando a gelatinização das miofibrilas. Verificaram também, que componentes de filamentos finos foram solubilizados facilmente com a aplicação de pressão, contudo, a solubilização da miosina, dependeu da magnitude e da duração da pressão aplicada.

De acordo com Marcos & Mullen (2014), a pressurização de amostras de carne bovina induziu uma redução solubilidade total da proteína, que parece ser explicada por mudanças na fração sarcoplasmática, com exceção da APH em 200 MPa e o processamento acima deste nível de pressão induziu uma perda crescente de solubilidade da proteína à medida que o nível de pressão aumentava. Estes autores afirmam ainda que APH não teve efeito na solubilidade da proteína miofibrilar e este fato de haver uma forte correlação positiva entre a solubilidade total e a proteína sarcoplasmática. Esses resultados concordam com observações realizadas anteriormente que relatam redução da solubilidade da proteína sarcoplasmática na carne pressurizada (KIM et al., 2007; MARCOS et al., 2010). Para tanto, Marcos et al. (2010) sugeriram que poderia existir relação entre alterações nas proteínas sarcoplasmáticas e alteração da qualidade da carne pressurizada em uma faixa de 200 a 600 MPa e ainda relataram que há relação entre modificação do sistema sarcoplasmático, fração protéica, alterações da capacidade de retenção de água e cor em carnes pressurizadas.

A redução da solubilidade das proteínas musculares é um indicador da desnaturação das proteínas, à medida que a solubilidade diminui devido à formação de agregados proteicos insolúveis que não podem mais ser extraídos (LAAKKONEN et al., 1970; FISCHER et al., 1979). A desnaturação induzida por pressão levaria à formação de agregados, provavelmente gerados através de pontes dissulfeto intermoleculares (GALAZKA et al., 2000).

Por outro lado, Ohlendieck (2010) demonstrou através de seus estudos que não ocorre muitas alterações nas proteínas sarcoplasmáticas e, portanto, estas não possuem envolvimento direto com o amaciamento. Guillemin et al. (2011) afirmaram que as maiores variações ocorreram nas proteínas estruturais e por isso a actina tem sido um dos alvos centrais das pesquisas sobre o comportamento da fisiologia muscular podendo ser considerada como um marcador de amaciamento.

Marcos & Mullen (2014) Afirmaram que o efeito da APH Na abundância de proteínas foi diferente dependendo do tipo de proteína, onde na fração sarcoplasmática, a APH aumentou a quantidade de proteínas miofibrilares presentes, enquanto diminuiu a quantidade de proteínas sarcoplasmáticas e concluíram ainda que no nível mais baixo de pressão (200 MPa) houve pouco efeito no perfil de proteínas sarcoplasmáticas. Para tanto, estes autores relataram a presença de fragmentos de proteínas miofibrilares na fração solúvel (cadeia leve da miosina, cadeia  $\alpha$ -1 da tropomiosina, cadeia  $\beta$  da tropomiosina e troponina T) aumentou devido a utilização BH com pressões acima de 200 MPa .

Cheah & Ledward (1996), Angsupanich & Ledward (1998) e Cheret et al., (2006) relataram alterações induzidas por pressão na fração protéica sarcoplasmática da carne devido à APH, com maior efeito à medida que a pressão do tratamento aumentou, principalmente acima de 200 MPa. Cheah & Ledward (1996) atribuíram a diminuição da intensidade da banda sarcoplasmática à degradação de proteínas ou insolubilização devido à desnaturação e agregação de proteínas. A pressão induz a interrupção das interações hidrofóbicas e eletrostáticas, ao mesmo tempo em que aprimora as ligações de hidrogênio, além de promover a formação de ligações dissulfeto (MOZHAEV et al., 1994).

Vários autores têm observaram a solubilização de proteínas miofibrilares devido à APH (CHEAH & LEDWARD, 1996; JUNG et al., 2000; SIKES et al., 2009). A solubilidade aumentada das proteínas miofibrilares devido à APH tem sido relacionada à despolimerização de proteínas e subsequentes interações aumentadas entre constituintes de proteínas e água (CHEFTEL & CULIOLI, 1997). Alguns autores relataram solubilização induzida por pressão de cadeias leves de miosina, tropomiosina, troponina T, e actina (MCARTHUR & WILDING, 1996; ANGSUPANICH et al., 1999; IWASAKI et al., 2006; JUNG et al., 2000; MA et al., 2011; MARCOS & MULLEN, 2014). A solubilização de  $\alpha$ -actinina, troponina C e proteína M e proteína C também foi relatada (IWASAKI et al., 2006; LEE et al., 2007; MA et al., 2011). A pressão induz a solubilização de proteínas miofibrilares e a insolubilização de proteínas sarcoplasmáticas resultando em carne mais pálida com diminuição dos valores no sistema colorimétrico CLE (MARCOS & MULLEN, 2014). Estes autores, concluíram que a APH em níveis de pressão acima 200 MPa modificaram fortemente os perfis proteicos e os parâmetros de qualidade do músculo longissimus thoracis e lombar bovino.

Alguns estudos foram realizados para verificar as mudanças na actina, miosina e actomiosina depois do tratamento com alta pressão. De acordo com Zayas (1997), as proteínas miofibrilares, miosina e actina, e até certo ponto a tropomiosina são conhecidas como as principais componentes de ligação à água no tecido muscular. A despolimerização, acompanhada de uma redução do volume do alimento cárneo exposto (verificado pela liberação de água) foi o principal efeito observado (GHOSH et al., 2001 apud SLONGO, 2008).

Outro fator importante no desenvolvimento da maciez é o papel de enzimas. As reações enzimáticas podem ser catalisadas ou inibidas por pressão, dependendo das alterações de volume envolvidas (EISENMENGER & REYES-DE-CORCUERA, 2009). De acordo com Jiménez-Colmenero et al. (1998) o aquecimento sob pressão favoreceu a desnaturação de proteínas que foi atribuída a uma quebra enzimática acelerada pela pressão de um componente de peso molecular mais alto (possivelmente a miosina). Estes autores afirmam, ainda, que a diminuição da atividade das proteases nas proteínas da carne foi devido à alta pressão aplicada, levando à desnaturação das proteínas miofibrilares.

Além disso, enzimas sob níveis de pressão suficientemente altos, na grande maioria dos casos, serão inativadas (provavelmente irreversivelmente) devido à desnaturação (MOZHAEV et al., 1994). Foi demonstrado que o tratamento de alta pressão pode aumentar a atividade da catepsina (SIKES et al., 2010) ia diminuir a atividade da calpastatina, um importante inibidor das calpaínias. no entanto catarinas são sensíveis a pressão isso a atividade é显著antemente diminuída pelo tratamento a 200 MPa por 10 minutos em temperatura ambiente (JIN et al., 2001).

Assim, se as enzimas estão envolvidas, as catepsinas são os reagentes mais prováveis, pois embora estejam localizados nos lisossomos, eles se romperão em torno de 200 MPa liberando as catepsinas no citoplasma (HOMMA et al., 1994). Essas proteases são resistentes a pressão e podem resistir a níveis superiores a 500 MPa (JUNG et al., 2000).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Local de Origem dos Animais Selecionados para o Experimento

Numa primeira etapa foram realizadas visitas na fazenda Trijunção, localizada no município de Jaborandi, oeste do estado da Bahia. Todos os animais participantes da pesquisa apresentavam idade morfológica semelhantes (2 dentes – 20 a 28 meses), foram criados a pasto e terminados em semi-confinamento por um período de 90 dias e foram abatidos no mesmo dia.

#### 3.2. Seleção das Carcaças

Foram selecionados 47 bovinos machos inteiros, sendo estes, 15 Angus x Caracu (F1), 16 Nelores e 16 Caracus para participar do projeto. Todos os animais participantes da pesquisa apresentavam idade morfológica semelhantes (2 dentes), sendo criados a pasto e terminados em semi-confinamento por um período de 90 dias. Todos os animais foram abatidos no mesmo dia.

As características de interesse para análises das carnes foram: perdas de peso por descongelamento, perda de peso por pressurização, perda de peso por cozimento, cor, força de cisalhamento, comprimento de sarcômero, atividade de água livre e perfil de proteínas da carne *não pressurizada* e pressurizada.

#### 3.3. Processamento da Carne

##### 3.3.1. Preparo das amostras

As carcaças bovinas foram desossadas no matadouro-frigorífico, em sala climatizada a 12°C, obtendo-se os cortes comerciais. Após, estes cortes foram resfriados a 15°C por 24 horas, onde foi feito a obtenção dos cortes primários. Em ambos os ensaios, na obtenção do corte serrote antes da desossa, foi medido o pH e a temperatura, utilizando-se de potenciômetro digital (pH-MV-TEMP Meter-206, LUTRON) inserido na altura do músculo *semitendinosus*, para confirmação do estabelecimento adequado do processo de *rigor mortis*. Seguida a desossa, os contrafilés (*longissimus dorsi*) foram retirados em peças inteiras.

No ensaio para a avaliação do efeito de pressão nas propriedades da carne, retirou-se apenas a porção compreendida entre a 10<sup>a</sup> e a 12<sup>a</sup> costelas identificadas no sentido caudo-cranial (MULLER, 1980). As amostras de carne bovina (carne *não pressurizada*) foram identificadas, cortadas em bifes de 2,5 cm de espessura, embaladas a vácuo e congeladas. Foi efetuado o congelamento na temperatura entre -30°C à -32°C em túnel de congelamento.

##### 3.3.2. Alta pressão hidrostática (APH)

Para a avaliação do efeito de pressão de processo sobre a textura e outras características da carne, as amostras foram pressurizadas em dois tratamentos, 100 e 200 MPa, utilizando-se o tempo necessário para o equipamento de alta pressão hidrostática atingir a pressão pré-estabelecida. O equipamento utilizado para pressurização é dado em modelo laboratorial (marca *Stansted Fluid Power* e modelo S-FL-850-9-W), e está localizado na EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, Guaratiba, Rio de Janeiro. As amostras de carne *não pressurizada* foram cortadas em tamanho 2,5 x 2,5 x 15 cm<sup>3</sup>, identificadas e embaladas à vácuo em embalagens de polipropileno. Posteriormente, foram colocadas em cilindro destinado à inserção de amostras dentro do vaso de pressão. A câmara de pressurização, foi hermeticamente fechada e vedada para evitar vazamentos. As amostras pressurizadas entraram com a temperatura de

aproximadamente 5°C, evitando um possível pré-cozimento indesejável da carne, visto que foi utilizada carne *não pressurizada* resfriada. Ao término do ciclo, após a despressurização, a câmara foi aberta e as amostras pressurizadas foram retiradas do cilindro e enviadas para as respectivas análises laboratoriais (CABRAL NETO, 2015).

### **3.4. Métodos Analíticos Laboratoriais**

A análise centesimal da matéria-prima utilizada foi realizada no laboratório de alimentos e bebidas da UFRRJ e as análises de pH, perda de peso por descongelamento, perda de peso por pressurização, perda de peso por cozimento, área de olho de lombo, espessura de gordura de cobertura, força de cisalhamento, luminosidade, intensidade de vermelho e intensidade de amarelo foram realizadas no laboratório de Zootecnia da UFRRJ, sendo ambos laboratórios localizados na cidade de Seropédica - RJ.

As análises de perfil e quantificação de proteínas foram realizadas no laboratório de bioquímica de alimentos da EMBRAPA/CTAA, localizada na cidade do Rio de Janeiro RJ e, as análises de microscopia de força atômica e ressonância magnética nuclear foram realizadas na EMBRAPA Instrumentação e Pecuária Sudeste, localizada em São Carlos – SP.

Para todas as análises, as amostras foram descongeladas, por 24 horas, em geladeira com temperatura interna de 4°C, a partir do dia anterior à análise.

#### **3.4.1. Força de cisalhamento e perdas de peso por cozimento**

Para realização da análise de textura por força de cisalhamento, foram utilizados cinco bifes cortados com volume de aproximadamente 2,5 x 2,5 x 15 cm<sup>3</sup> por tratamento, totalizando 15 bifes por análise. Os bifes foram assados em “grill” elétrico, pré-aquecidos à temperatura de 170°C.

Cada bife resfriado foi pesado e acondicionado sobre a chapa inferior do “grill”, sendo este, imediatamente fechado. Ao atingirem a temperatura interna de 72°C, os bifes foram retirados do “grill”. O controle da temperatura interna nos bifes foi realizado através de um termômetro de haste metálica, inserido no centro da amostra. Após retirar os bifes do “grill”, as amostras foram deixadas em recipientes até que atingissem a temperatura ambiente, sendo estas pesadas posteriormente, calculando-se assim as perdas de peso por cozimento através da aferição da diferença entre o peso dos bifes resfriados e grelhados. Portanto, a perda de peso por cocção (PPC) corresponde à perda de líquido durante o processo de preparo da carne para consumo, sendo calculadas, por meio da diferença entre peso inicial e final.

Os bifes grelhados foram identificados e levados ao refrigerador à temperatura de 4°C, por um período de 24 horas. Foram removidos paralelamente à orientação longitudinal das fibras musculares pelo menos seis cilindros de 1,27 cm de diâmetro. Os cilindros foram cortados perpendicular à orientação das fibras musculares usando texturômetro TA-HD<sub>i</sub> (Texture Technologies Corp./ StableMicro Systems, UK), equipado com lâmina de Warner-Bratzler, de 1mm de espessura. A velocidade de subida e descida da lâmina foi fixada em 200mm/min (AMSA, 1995) e a distância da mesma à plataforma em 25,0 mm. Cada cilindro foi cortado uma única vez e o resultado foi expresso em Newton.

#### **3.4.2. Cor da carne**

A cor do músculo foi analisada através de sistema colorimétrico CIE L\*a\*b, utilizando-se um colorímetro da marca Hunter Lab, modelo Color Quets XE, calibrado para um padrão branco em ladrilho, com abertura de 1 cm de diâmetro (BRESSAN & BERAQUET, 1998). Foram utilizados 72 bifes para a análise de cor.

Para a análise das amostras *não pressurizadas*, foram utilizadas 24 amostras de bifes, sendo oito destes, de animais diferentes, dentro de cada grupamento genético. As amostras foram descongeladas em geladeira, à temperatura de 4°C, por um período de 24 horas. Oito bifes de animais diferentes de cada grupamento genético para serem avaliados, para cada tratamento.

As amostras de carne que foram pressurizadas à 100 e 200 MPa, foram descongeladas, identificadas e embaladas à vácuo, sendo estas destinadas ao equipamento de pressurização. Após, foram retiradas das embalagens à vácuo para aferição de cor através do mesmo equipamento utilizado na análise das amostras *não pressurizadas*. Para cada tratamento (100 MPa e 200 MPa), bem como para a análise das carnes *não pressurizadas*, foram utilizadas 24 amostras de bifes, sendo oito destes, de animais diferentes, dentro de cada grupamento genético.

### **3.4.3. Perfil de proteínas**

Para extração de proteínas da carne bovina foram utilizadas 10 g de amostras previamente descongeladas, microprocessadas em blender, sendo utilizadas carnes classificadas como congeladas e pressurizadas. Posteriormente, esta quantidade de carne foi homogeneizada em 50 mL de uma solução extratora, que permite a extração concomitante de proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares. Esta solução tem como composição: tampão Tris-HCl 0,065 M (pH 6,8), dodecil-sulfato de sódio (SDS) 3% p/v e β-mercaptoetanol (ME) 1% v/v.

Após a homogeneização, em blender, durante 2 minutos, as amostras foram destinadas à centrifugação, onde foram centrifugadas durante 15 minutos, sob uma temperatura de 4°C e rotação de 3000 rpm.

Em um primeiro tubo de ensaio foram adicionados 0,4 mL de sobrenadante e diluído com 1,6 mL de água destilada e homogeneizada. Em um segundo tubo de ensaio foram adicionados 200 µL do conteúdo do primeiro tubo de ensaio e 100 µL de solução extratora que em seguida foi homogeneizada e transferida para microtubos do tipo eppendorf. Este procedimento foi realizado em triplicata e os microtubos foram fervidos em banho maria por 5 minutos para completar a desnaturação. Após a fervura as amostras foram utilizadas para a eletroforese.

A alíquota de 3 µL foi utilizada para a eletroforese de proteínas em gel de poliacrilamida que foi realizada no laboratório de bioquímica de alimentos da EMBRAPA/CTAA, utilizando-se o sistema de eletroforese vertical PROTEAN II xi Cell da BIORAD, conforme metodologia proposta por Laemmli (1970). Foi utilizada acrilamida na concentração de 12% no gel de corrida e de 4% no gel de aplicação. A corrida eletroforética foi realizada durante um período de sete horas e sob uma tensão de 100V. As proteínas dos géis foram coradas com ácido acético 10% (v/v), álcool metílico 40% (v/v) e Coomassie Brilliant Blue R250 1% (v/v), durante uma noite. O gel foi descorado em solução contendo 10% (v/v) de ácido acético e 40% (v/v) de álcool metílico, renovando-se a solução a cada 30 minutos, até obtenção de revelação nítida.

O cálculo da massa molecular das frações proteicas foi efetuado de acordo com a migração no gel (cm), com base nas massas moleculares dos marcadores. Para tanto, Os marcadores de massa molecular foram os da marca BIO-RAD LABORATORIES (Richmond, EUA), sendo os de alto peso molecular: miosina (202,44kDa), β-galactosidase (116,58kDa), albumina sérica bovina (98,08kDa), ovalbumina (49,49kDa), e os de baixo peso molecular: fosforilase B (103,04kDa), albumina sérica bovina (80,66kDa), ovalbumina (49,49kDa), anidrase carbônica (36,55kDa), inibidor de tripsina de soja (28,83kDa) e lisozima (19,45kDa).

### **3.4.4. Ressonância magnética nuclear (RMN)**

Foi avaliado o efeito da alta pressão hidrostática sobre as amostras de contrafilé (*m. longissimus dorsi*) de oito animais provenientes dos três grupamentos genéticos. As amostras

*não pressurizadas* foram previamente descongeladas, cortadas em cubos de 2,5 x 2,5 x 2,5 cm<sup>3</sup>, embaladas à vácuo e pressurizadas, sendo estas submetidas à dois tratamentos, 100 e 200 MPa até atingirem o tempo necessário para alcançar a pressão pré-estabelecida, sendo este procedimento seguido de despressurização. Após o procedimento de pressurização, as amostras foram congeladas e encaminhadas para as análises de ressonância magnética nuclear (RMN).

As amostras foram analisadas como descrito por Pereira et al. (2013). Para as medições, foi utilizado um espetrômetro de bancada SLK 100 TD-RMN (Spinock Magnetic Resonance Solution, Córdoba, Argentina) equipado com um imã permanente de 0,23 T (8,9 MHz para 1 H) e uma cabeça de sonda de 13 30 mm foi aplicado para coletar CPMG e sinais de decaimento do CWFP. A sequência CPMG foi executada usando para 2 e pixels de 3,28 e 12,56 ms, respectivamente, e tempos de eco de ¼ 300 ms com um total de 1500 ecos. O tempo morto foi de 50 ms. A sequência CWFP também usou p2 e pulsos de 3,28 e 10,6 ms, tempos de eco de 141,56 e 1501 ecos. O desvio de frequência foi de 5 KHz. Cada sinal para ambas as sequências foi o resultado de uma média de 4 varreduras. A temperatura ambiente foi mantida constante a 23 graus. Os dados da RMN foram analisados pelo software Origin.

### 3.4.5. Microscopia de força atômica (MFA)

Para realização das análises de microscopia de força atômica, as amostras foram preparadas no laboratório de carnes da EMBRAPA Pecuária Sudeste e analisadas na EMBRAPA Instrumentação, ambas localizadas em São Carlos, São Paulo. Deste modo, foram utilizadas amostras de oito animais de cada grupamento genético, que compunham três tratamentos, carnes *não pressurizadas* e carnes pressurizadas à 100 e 200 MPa.

As amostras de carne submetidas ao tratamento de alta pressão hidrostática foram previamente processadas na EMBRAPA Agroindústria de Alimentos e armazenadas em freezer à -10°C por 48 horas.

Na EMBRAPA Instrumentação as amostras do músculo *longissimus dorsi* dos três diferentes grupamentos genéticos, foram analisadas pelo microscópio de força atômica, em que, foi avaliado o efeito da alta pressão na integridade estrutural dos sarcômeros. Para tanto, foi utilizado 0,3 g de amostra de carne diluída em 30 mL de água destilada, sendo esta solução homogeneizada em homogeneizador Vortex. Após deixar a solução por 30 minutos em repouso, foram coletados 10 µL de amostra para ser depositado em lâminas de vidro e estas ficaram secando no interior de um dessecador por 30 minutos até o momento de serem analisadas. As amostras de sarcômeros, foram analisadas pelo microscópio de força atômica em modo dinâmico. Os dados da MFA foram analisados com o software de domínio público Gwydion e análise estatística destes dados foram feitas utilizando o software Origin.

### 3.4.6. Dosagem de proteínas solúveis

A dosagem colorimétrica de proteínas solúveis foi realizada através do método de Bradford (1976).

Para o preparo da solução de Bradford foram utilizados, 100 mg de “Comassie Blue G250” que foram homogeneizados em 50 mL de etanol 95% e a solução transferida para um balão volumétrico de 1000 mL com o auxílio de um funil. A este balão foram adicionados 100mL de ácido fosfórico 85%, em seguida, o balão foi avolumado com água destilada. O mesmo, foi deixado sob agitação e ao abrigo da luz durante 24 horas. Posteriormente, o reagente foi filtrado duas vezes em papel de filtro e acondicionado em frasco âmbar até sua utilização.

Para preparar as soluções padrão de albumina de soro bovino nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mg/mL, foi feito uma amostra mãe na concentração inicial de 5,0 mg/mL, pesando 50 mg de albumina e este foi avolumando para 10 mL, sendo essa solução, armazenada

em eppendorf e congelada. A partir da solução mãe, foram feitas diluições sucessivas em balões de 10 mL, usando diferentes volumes (mL), assim como descrito a seguir: 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0. Após completar o volume água destilada, pipetou-se 100  $\mu$ L dos padrões nos diferentes tubos de ensaio e adicionou-se 5 mL do reagente de Bradford. Após 15 minutos da adição do reagente de Bradford, realizou-se as leituras espectrofotométricas para construção da curva-padrão de albumina, composta de cinco pontos ( $P1=0,1$  mg mL $^{-1}$ ;  $P2=0,2$  mg mL $^{-1}$ ;  $P3=0,3$  mg mL $^{-1}$ ;  $P4=0,4$  mg mL $^{-1}$ ;  $P5=0,5$  mg mL $^{-1}$ ).

O exsudato da carne bovina foi utilizado como amostra para realização da análise de quantificação de proteínas, sendo estes, diluídos na proporção de 1:400. Para tanto, utilizou-se 50  $\mu$ L de amostra e 19,95  $\mu$ L de água destilada. Para as análises das amostras alíquotas (Br, CA0, CG0, NE0, CA100, CG100, NE100, CA200, CG200 e NE200) foram pipetados 100  $\mu$ L da amostra diluída e a esta foram adicionados 5 mL do reagente de Bradford, em triplicata. Após 15 minutos da adição do reagente de Bradford nas amostras, foram realizadas as leituras através do espectrofotômetro.

As leituras espectrofotométricas foram realizadas através do equipamento Biospectro SP-220, no comprimento de onda de 595nm, em cubeta de vidro e com lâmpada de tungstênio.

### 3.5. Análise Estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3 com três grupos genéticos e três tratamentos (*não pressurizada*, pressurização à 100 MPa e 200 MPa). O modelo matemático utilizado foi:

$$Y_{ijk} = m + G_i + P_j + (G*P)_{ij} + e_{ijk}$$

sendo:

$Y_{ijk}$  = valor observado no iésimo grupo genético, no processamento j;

$m$  = média geral;

$G_i$  = efeito do grupo genético i

$P_j$  = efeito do processamento j

$(G*P)_{ij}$  = efeito da interação entre o grupo genético i e o processamento j

$e_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação.

As variáveis foram submetidas à análise de variância em arranjo fatorial pelo Proc GLM do SAS (SAS, 2004) e em seguida foi aplicado o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Nas variáveis onde a interação foi significativa, foi realizado o desdobramento desta.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 refere-se às médias gerais e desvios padrão de carnes não pressurizadas de 18 animais, sendo 6 pertencentes ao grupamento genético Caracu (CA), 6 Caracu x Angu (CG) e 6 Nelore (NE) para as variáveis: pH final da carne resfriada (pH), porcentagem para perda de peso ao descongelamento (PPD), porcentagem para perda de peso por cozimento (PPC), força de cisalhamento (FC), comprimento de sarcômero (CS), luminosidade (L), intensidade de vermelho (a), intensidade de amarelo (b), área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura de cobertura (EGC).

**Tabela 1.** Parâmetros de qualidade da carne não pressurizada de diferentes grupamentos genéticos de bovinos

Parâmetro	Grupo			Média
	CA	CG	NE	
pH	5,57 ± 0,14	5,63 ± 0,11	5,64 ± 0,11	5,61 ± 0,12
PPD (%)	6,67 ± 5,55	5,67 ± 2,58	5,56 ± 2,26	5,97 ± 2,43
PPC (%)	31,49 ± 5,76	32,25 ± 5,70	32,04 ± 5,47	31,93 ± 5,40
FC (Kgf)	5,96 ± 1,03	4,33 ± 1,24	5,94 ± 1,83	5,41 ± 1,56
CS (μm)	1,80 ± 0,12	1,95 ± 0,27	1,76 ± 0,11	1,86 ± 0,19
L*	35,86 ± 0,15	34,99 ± 0,93	35,65 ± 1,00	35,50 ± 1,05
a*	13,01 ± 0,63 <sup>b</sup>	15,07 ± 1,22 <sup>a</sup>	14,00 ± 1,22 <sup>ab</sup>	14,03 ± 1,33
b*	11,58 ± 0,99	11,80 ± 0,96	11,93 ± 0,74	11,77 ± 0,87
AOL (cm <sup>2</sup> )	92,13 ± 7,85 <sup>ab</sup>	99,38 ± 10,46 <sup>a</sup>	84,75 ± 6,32 <sup>b</sup>	92,09 ± 6,36
EGC (mm)	4,09 ± 1,48	4,63 ± 1,46	4,23 ± 1,05	4,33 ± 0,50

Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Nota: Médias geral de pH final da carne resfriada (pH), perda de peso ao descongelamento (PPD), perda de peso por cozimento (PPC), força de cisalhamento (FC), comprimento de sarcômero (CS), luminosidade (L\*), intensidade de vermelho (a\*), intensidade de amarelo (b\*), área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura de cobertura (EGC) de carnes não pressurizadas de bovinos Caracu (CA), Angus x Caracu (CG) e Nelore (NE)

Muchenje et al. (2009), classifica as médias de L\* para bovinos variando entre 33,2 a 41,0, as médias de cor vermelha entre 11,1 a 23,6 e as médias de cor amarela entre 6,1 a 11,3, sendo os valores inferiores são considerados como carne escura e os superiores as médias como carne clara, dados estes, similares aos resultados encontrados neste estudo para luminosidade (L), para intensidade de vermelho (a) e para intensidade de amarelo (b), diante dos grupamentos CA, CG e NE.

Renerre & Labas (1987) afirmam que a descida de pH muscular atua no processo de oxigenação e oxidação da mioglobina. Além disso, a descida de pH muscular atua também na cor superficial da carne tornando a carne mais brilhante, principalmente no que se refere à capacidade de retenção de água no músculo, influenciando assim a escala de cor relacionada com a luminosidade, ou seja, os valores de L\*. Neste estudo, as médias encontradas para os parâmetros L\* e para pH final da carne resfriada, corroboram com os estudos de Renerre & Labas, onde pode-se observar que não houve diferença significativa entre os grupamentos avaliados diante do pH, assim como ocorreu para L\*.

Martins (2017) testou diversos parâmetros para avaliar a qualidade de carne bovina diante de diferentes valores de pH (pH alto (> 6,1), intermediário (entre 5,8 e 6,0) e baixo (<5,7)) e concluiu que os valores de a\* e b\* para a carne com o pH alto tem menores valores para intensidade de vermelho (a\*- 13,8) e amarelo (b\*- 10,0) e pH intermediário (a\*- 15,4 e b\*- 12,4) do que carnes com pH baixo (a\*- 19,8 e b\*- 16,3). As conclusões destes autores

assemelham-se com os estudos de Wulf et al. (2002) que encontraram pH da carne normal 5,46 ( $L^*=41,1$ ,  $a^*=25,0$  e  $b^*=11,1$ ) e pH da carne DFD 6,06 ( $L^*=34,8$ ,  $a^*=18,8$  e  $b^*=6,7$ ).

De acordo com Abril et al. (2001), a cor mais escura da carne com pH alto é devida essencialmente ao pH elevado, onde as proteínas miofibrilares da carne tem uma maior capacidade de se ligar à água do que a carne com pH normal, resultando numa estrutura fechada com poucos espaços extracelulares e uma maior capacidade de reter água, inibindo a difusão do oxigênio, permitindo desta forma uma maior absorção da luz incidente e baixa dispersão da luz na superfície da carne. Por outro lado, Mancini & Hunt (2005) afirmam que o aumento da intensidade de vermelho e de amarelo pode ser explicado pela presença de oxigênio favorecer a oxidação da oximioglobina em metamioglobina. Para tanto, a formação de oximioglobina, de cor vermelho brilhante, é reduzida devido ao consumo de oxigênio pelas mitocôndrias serem favorecidos a pH elevado. Com isso, a camada vermelha brilhante de oximioglobina que se forma na superfície é reduzida, predominando a mioglobina de cor púrpura, que é a desoximioglobina (LEDWARD et al., 1986; SIEDEMAN et al., 1989; RENERRE, 1990).

A velocidade de queda do pH, ou seja, a rápida acidificação, está diretamente associada ao processo de perda de água, por causar a desnaturação das proteínas musculares, diminuindo sua capacidade de retenção de água (LAWRIE, 2005). Neste estudo, pode-se afirmar que os valores encontrados para pH são normais para a carne resfriada, assim como os valores para PPD.

Aroiera (2016) relata ter encontrado correlação negativa entre o comprimento de sarcômero e a perda de peso ao descongelamento. Os resultados deste autor estão de acordo com os observados por Honikel et al. (1986) que diz haver uma linearidade negativa entre os parâmetros encurtamento do sarcômero e perda de peso pelo descongelamento da carne.

A perda de peso por cocção é um fator que reflete durante o cozimento e pode afetar diretamente a qualidade da carne bovina, visto que influencia na suculência durante a mastigação, sendo manifestada pela exsudação de fluido (FARIAS, 2016). O processo de cozimento provoca um encurtamento das fibras musculares devido à perda de água, podendo ser superior a 40% (VARNAM & SUTHERLAND, 1998), promovendo a diminuição na maciez da carne. Fatores como a temperatura, a presença ou ausência de umidade, o tempo de cozimento e a temperatura final no interior da carne são importantes variáveis que devem ser controladas. Se houver grandes perdas, poderá promover o ressecamento, enrijecimento, perda e/ou alteração do sabor e aroma da carne preparada para consumo (FELÍCIO, 1999; DE PAULA, 2013). Para tanto, todos os valores para PPC encontrados neste estudo, estão abaixo de 40%, sendo, 31,49% para CA, 32,25% para CG e 32,04% para NE estando, portanto, de acordo com os valores normais para este parâmetro.

Observou-se que dentre todos os parâmetros avaliados, apenas a intensidade  $a^*$  e a AOL apresentaram diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre os grupamentos genéticos. Em relação a intensidade  $a^*$ , CA foi estatisticamente menor do que CG, contudo, ambos foram iguais a NE, e para AOL, CG apresentou maior AOL do que NE, porém, ambos foram semelhantes a CA.

Não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) para os valores de pH final da carne resfriada, entre os grupamentos genéticos CA, CG e NE, corroborando com os valores de pH encontrados por Aroiera (2016) ( $pH = 5,51$  para carne de Nelore e  $pH = 5,58$  para carne de Aberdeen Angus) e Farias (2016) ( $pH = 5,67$  para carne de Nelore). Contudo, foi observado diferença significativa nos parâmetros  $a^*$  (intensidade de vermelho) e AOL.

Neste estudo, foi observado diferença significativa ( $p<0,05$ ) para AOL entre os grupamentos genéticos CG e NE, contudo, o grupamento CA foi estatisticamente igual a ambos. Ribeiro et al. (2008) avaliando o desempenho de bovinos Nelore ( $60,50 \pm 3,3 \text{ cm}^2$ );  $\frac{1}{2}$  Guzerá  $\times$   $\frac{1}{2}$  Nelore ( $61,3 \pm 2,7 \text{ cm}^2$ ) e  $\frac{1}{2}$  Brahman  $\times$   $\frac{1}{2}$  Nelore ( $64,1 \pm 2,5 \text{ cm}^2$ ), castrados, abatidos aos 36 meses de idade, sendo alimentados em pastagem de capim braquiária, encontrou

similaridade para este parâmetro. Cundiff et al. (1993) também encontraram área de olho-de-lombo igual para novilhos Brahman e Nelore.

Morales et al. (2003), avaliou bovinos superprecoce (abatidos aos 12-13 meses), confinados por 168 dias, das raças Aberdeen Angus, Canchim e Simental e observou maiores índices de marmorização e de gordura subcutânea para o Aberdeen Angus, quando comparado as outras raças, sobretudo, não foi identificado diferença significativa para AOL entre as raças Aberdeen Angus ( $68,83 \text{ cm}^2$ ), Canchim ( $69,50 \text{ cm}^2$ ) e Simental ( $74,83 \text{ cm}^2$ ).

De acordo com Leme et al. (2000), a AOL é uma medida importante, pois apresenta boa correlação com a quantidade de músculo na carcaça. No entanto, mesmo ao se notar semelhança entre a maioria dos resultados, o parâmetro em discussão varia grandemente com o peso e idade de abate, as diferenças entre grupos genéticos (*Bos taurus* e *Bos indicus*), além do período de confinamento, devido ao crescimento tardio do *Longissimus dorsi*, músculo em que se realiza a avaliação.

A Tabela 2 apresenta resultados referente aos mesmos parâmetros de qualidade previamente avaliados. Cabe ressaltar que para esta análise os animais não foram separados pelos grupamentos genéticos pois o objetivo foi comparar o efeito do tratamento de forma independente. Desse modo, a tabela 2 refere-se aos parâmetros: pH final da carne resfriada (pH), porcentagem para perda de peso por pressurização (PPP), porcentagem para perda de peso por cozimento (PPC), força de cisalhamento (FC), comprimento de sarcômero (CS), luminosidade (L\*), intensidade de vermelho (a\*) e intensidade de amarelo (b\*).

**Tabela 2.** Parâmetros de qualidade de carnes não pressurizadas e pressurizadas

Variável	NP	100 MPa	200 MPa
pH	$5,61 \pm 0,12$	$5,62 \pm 0,11$	$5,64 \pm 0,09$
PPP (%)	-	$7,22 \pm 2,54$	$6,67 \pm 3,36$
PPC (%)	$31,93 \pm 5,40$	$32,90 \pm 6,46$	$31,08 \pm 7,37$
FC (kgf)	$5,41 \pm 1,56^a$	$4,61 \pm 1,26^{ab}$	$4,40 \pm 1,31^b$
CS (μm)	$1,86 \pm 0,19$	$1,92 \pm 0,28$	$1,99 \pm 0,26$
L*	$35,50 \pm 1,05$	$35,47 \pm 2,16$	$36,44 \pm 1,55$
a*	$14,03 \pm 1,33^a$	$12,66 \pm 2,01^b$	$12,24 \pm 1,57^b$
b*	$11,77 \pm 0,87^a$	$13,39 \pm 2,56^b$	$13,22 \pm 2,29^{ab}$

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Nota: Médias comparativas entre os parâmetros pH final da carne resfriada (pH), perda de peso por pressurização (PPP), perda de peso por cozimento (PPC), força de cisalhamento (FC), comprimento de sarcômero (CS), luminosidade (L\*), intensidade de vermelho (a\*), intensidade de amarelo (b\*) de carnes não pressurizadas (NP), pressurizadas à 100 MPa (100 MPa) e pressurizadas à 200 MPa (200 MPa)

Dante dos resultados, observou-se que dentre os parâmetros avaliados, os que apresentaram diferença significativa ( $p<0,05$ ) foram: FC e b\*. A FC das amostras NP foram estatisticamente iguais às 100 MPa, contudo, NP foi maior do que às pressurizadas à 200 MPa. Entretanto, para FC, as amostras pressurizadas à 100 MPa foram iguais às 200 MPa. A intensidade de amarelo (b\*) foi maior nas amostras pressurizadas à 100 MPa, quando comparadas às amostras NP e estatisticamente iguais as amostras à 200 MPa. Contudo, as amostras NP para b\* foram estatisticamente iguais às pressurizadas à 200 MPa, o que significa que não houve alteração em relação a intensidade de amarelo quando as amostras pressurizadas à 200 MPa foram comparadas as amostras não pressurizadas.

Neste estudo foi observado diferença significativa para FC entre os tratamentos NP e 100 MPa que foram estatisticamente iguais, contudo, NP foi maior do que às pressurizadas à 200 MPa. Por outro lado, as amostras pressurizadas à 100 MPa foram iguais às 200 MPa. Os resultados encontrados por Fernandes et al. (2016) (de 60,46 a 57,13 N) e Cabral Neto et al. (2015) (de 2,32 para 1,83 Kgf) corroboram com este estudo, onde as carnes bovinas processadas

à 200 MPa apresentaram melhoria na maciez (de 5,41 a 4,40 Kgf). Sobretudo, Lowder et al. (2014) e Tokifushi et al. (2013) ao avaliar os efeitos da alta pressão não observaram efeito positivo.

Os resultados encontrados neste estudo podem ser explicados pelo fato da APH induzir o aumento da atividade proteolítica e com isso, proporcionar maior exposição e amaciamento que ocorre devido às alterações do tecido da carne induzidas por enzima/substrato, ou por mudanças nas proteínas (MA & LEDWARD, 2013). Estes resultados podem também ser explicados através das afirmações de Kubo et al. (2002) que relatam que a organização da membrana de lisossomos e retículo sarcoplasmico, são enfraquecidas e destruídas por alta pressão de 100 a 150 MPa ou mais e como resultado, várias enzimas hidrolíticas/digestivas armazenadas em lisossomos, particularmente catepsinas, são liberadas dos lisossomos para o citosol. Outro fato decorrente do processo de pressurização em carnes e que podem explicar os resultados aqui obtidos está associado aos íons de cálcio acumulados no retículo sarcoplasmático que saem por vazamento da membrana sarcoventricular, aumentando a concentração de íons de cálcio no citoplasma e como consequencia, a calpaína (uma protease ativada por íon de cálcio) é ativada (SUZUKI, 2002).

De acordo com Rubensam et al. (1998), o complexo do sistema calpaínas é constituído ainda pela presença da calpastatina, proteína inibidora das calpaínas, reduzindo assim a maciez. A calpastatina tem grande influência na maciez da carne após 24 horas e nas carnes maturadas, cessando seus efeitos apenas quando termina o efeito da calpaína ou o sistema enzimático é destruído pelo cozimento, podendo este fator ser determinante no processo de amaciamento. Sobretudo, dependendo da pressão empregada, a pressurização pode melhorar a maciez da carne de zebuínos (*Bos indicus*), que são animais com maior concentração de calpastatina muscular. Relatos da literatura mostram que pressões à 100 MPa são suficientes para inativar a calpastatina muscular, e que o processo de pressurização induz ao extravasamento do cálcio que fica acumulado no retículo sarcoplasmico e sai pela membrana sarcoventricular, aumentando a concentração de íons de cálcio no citoplasma e como consequência, a calpaína (uma protease ativada por íon de cálcio) é ativada, aumentando dessa forma o potencial de ação da calpaína, que por ser uma protease, desnatura as proteínas, causando consequente amaciamento da carne.

Homma et al., (1994), Lanciotti et al. (2004) e Ma & Ledward (2013) explicaram que os fenômenos especificamente envolvidos nestes processos são os seguintes: liberação de catepsina presente em lisossomos, ativação de calpaínas e catepsinas até 150 MPa; e inativação da calpastatina (à 100 MPa), que são inibidores das calpaínas. Nishiumi (2017) por sua vez, afirma que a pressão muda a estrutura das proteínas, induz a sua dissociação e causa a desnaturação de moléculas proteicas. Entretanto, Farias et al. (2016) afirma que o principal mecanismo ou sistema relacionado com a maciez é o das calpaínas, as quais não atuam diretamente sobre a miosina e a actina, degradam a linha Z e digerem as proteínas desmina, titina, nebulina, tropomiosina, troponina e proteína C. A hidrólise da tropomiosina e troponina facilita a desestruturação e a liberação dos filamentos finos, enquanto a digestão da proteína C em um mecanismo semelhante desestabiliza e libera os filamentos grossos, resultando nos monômeros de miosina. As proteínas titina e nebulina reforçam transversalmente a estrutura miofibrilar e a ação da  $\mu$ -calpaína e m-calpaína sobre estas enfraquece sua estrutura. Finalmente, a digestão da desmina e das linhas Z também enfraquecem a estrutura miofibrilar, principalmente as linhas Z, que são necessárias para manter juntos os sarcômeros (KUBOTA et al., 1993).

Corroborando com os resultados deste estudo, Cabral Neto et al. (2015) analisando carne bovina e Cappelletti et al. (2015) analisando carne suína, encontraram para intensidade de vermelho (a\*) valores inferiores para as amostras de carne bovina pressurizadas em relação às amostras *não pressurizadas*. Já Fernandes et al. (2016) avaliando carne de Caituti, observou aumento significativo para as amostras de pá pressurizadas quando estas foram comparadas às

amostras *não pressurizadas*, enquanto nas amostras do corte lagarto não foram encontradas diferenças significativas. Este autor ressalta que o aumento de  $a^*$  nas amostras pressurizadas é dado como um fator positivo pois torna a carne mais atrativa ao consumidor. Entretanto, Carlez et al. (1995) relataram não haver diferença significativa nos valores de  $a^*$  (~18,6) e  $b^*$  (~10,3) em carnes bovinas tratadas com pressões até 400 MPa.

Fernandes et al. (2016) analisando carne de caititu, observaram que houve decréscimo significativo nas amostras de pá, diante do parâmetro  $b^*$  para amostras pressurizadas à 200 MPa quando comparadas às amostras NP e 100 MPa e para as amostras de lagarto observou que os valores encontrados nas amostras pressurizadas à 200 MPa foram semelhantes às amostras NP. Cabral Neto et al. (2015) analisando carne bovina pressurizada, observou diminuição significativa para  $b^*$  em relação às carnes pressurizadas à 100, 200 e 300 MPa quando comparados as amostras controle.

Apesar de Carlez et al. (1995) não ter observado diferença significativa nos valores de  $b^*$ , explicou que o aumento deste parâmetro  $b^*$ , devido a APH, podem ser atribuídos à formação de metamioglobina, corroborando com os resultados encontrados por Goutefongea et al. (1995) que relacionaram o aumento de  $b^*$  à mudanças no estado químico da mioglobina, e ambos foram similares aos resultados encontrados neste estudo.

#### 4.1. Efeito de Diferentes Grupamentos Genéticos e Níveis de Pressão

Para avaliação da interação entre os tratamentos NP, 100 MPa e 200 MPa com os grupamentos genéticos CA, CG e NE, foram utilizadas 72 amostras de carne bovina, sendo estas separadas em 3 grupos (CA, CG e NE), totalizando 24 amostras de carne por grupamento genético. O total de amostras por grupamento genético, foi subdividido em 3 grupos (NP, 100 MPa e 200 MPa) de acordo com os tratamentos utilizados, ficando desta forma, 8 amostras de cada grupamento genético por tratamento.

A Tabela 3 mostra os efeitos da interação dos parâmetros pH, PPP, PPC, FC, CS, L\*,  $a^*$ ,  $b^*$  das amostras de carne bovina dos grupamentos genéticos (CA, CG e NE) diante dos tratamentos (NP, 100 MPa e 200 MPa) inferidos.

**Tabela 3.** Resultado do efeito da interação dos diferentes grupamentos genéticos com os tratamentos de carnes pressurizadas e não pressurizadas, médias entre tratamentos e médias entre grupamentos genéticos

Tratamento	CA	CG	NE	Média
pH				
NP	5,57 ± 0,14	5,63 ± 0,11	5,64 ± 0,11	5,61 ± 0,12
100 MPa	5,57 ± 0,14	5,66 ± 0,07	5,64 ± 0,07	5,62 ± 0,11
200 MPa	5,63 ± 0,11	5,66 ± 0,056	5,64 ± 0,11	5,64 ± 0,09
Média	5,59 ± 0,13	5,65 ± 0,08	5,64 ± 0,10	-
PPP (%)				
100 MPa	9,46 ± 1,79	5,13 ± 1,81	7,07 ± 1,99	7,22 ± 2,54
200 MPa	9,24 ± 3,87	5,38 ± 2,33	5,40 ± 2,34	6,67 ± 3,36
Média	9,35 ± 2,91 <sup>A</sup>	5,26 ± 2,02 <sup>B</sup>	6,24 ± 2,27 <sup>B</sup>	-
PPC (%)				
NP	31,49 ± 5,76 <sup>acAC</sup>	32,25 ± 5,70 <sup>acAC</sup>	32,04 ± 5,47 <sup>acAC</sup>	31,93 ± 5,40
100 MPa	38,98 ± 4,16 <sup>aA</sup>	27,45 ± 3,90 <sup>bcBC</sup>	32,26 ± 5,29 <sup>acAC</sup>	32,90 ± 6,46
200 MPa	39,20 ± 4,39 <sup>aA</sup>	25,73 ± 3,00 <sup>bcBC</sup>	28,33 ± 5,77 <sup>bcBC</sup>	31,09 ± 7,37
Média	36,56 ± 5,88	28,48 ± 5,02	30,88 ± 5,58	-

**Tabela 3.** Continuação

	FC (Kgf)			
NP	5,96 ± 1,03	4,33 ± 1,24	5,94 ± 1,83	5,41 ± 1,55 <sup>a</sup>
100 MPa	4,42 ± 0,95	3,71 ± 0,91	5,70 ± 1,09	4,61 ± 1,26 <sup>b</sup>
200 MPa	4,77 ± 1,26	3,20 ± 0,88	5,23 ± 0,83	4,40 ± 1,31 <sup>b</sup>
Média	5,05 ± 1,24 <sup>A</sup>	3,75 ± 1,09 <sup>B</sup>	5,62 ± 1,29 <sup>A</sup>	-
	CS (μm)			
NP	1,81 ± 0,12	1,95 ± 0,27	1,78 ± 0,11	1,85 ± 0,19
100 MPa	2,05 ± 0,44	2,00 ± 0,22	1,68 ± 0,01	1,91 ± 0,28
200 MPa	1,90 ± 0,42	2,02 ± 0,30	2,04 ± 0,44	1,99 ± 0,26
Média	1,92 ± 0,23	1,99 ± 0,23	1,83 ± 0,26	-
	L*			
NP	35,86 ± 1,15 <sup>aA</sup>	34,99 ± 0,93 <sup>abAB</sup>	35,65 ± 1,00 <sup>aA</sup>	35,50 ± 1,05
100 MPa	36,24 ± 0,93 <sup>aA</sup>	36,97 ± 0,88 <sup>aA</sup>	33,20 ± 2,16 <sup>bB</sup>	35,47 ± 2,16
200 MPa	36,73 ± 0,81 <sup>aA</sup>	37,18 ± 0,90 <sup>aA</sup>	35,41 ± 2,16 <sup>abAB</sup>	36,44 ± 1,55
Média	36,23 ± 1,01	36,24 ± 1,36	34,84 ± 2,01	-
	a*			
NP	13,01 ± 0,63 <sup>bceBCE</sup>	15,07 ± 1,22 <sup>afAF</sup>	14,00 ± 1,21 <sup>efEF</sup>	14,03 ± 1,33
100 MPa	11,19 ± 0,84 <sup>bB</sup>	11,86 ± 0,76 <sup>bdBD</sup>	14,93 ± 1,68 <sup>acfACF</sup>	12,66 ± 2,01
200 MPa	11,05 ± 1,64 <sup>bB</sup>	12,22 ± 0,60 <sup>bdeBDE</sup>	13,46 ± 1,36 <sup>acdfACDF</sup>	12,24 ± 1,57
Média	11,88 ± 1,40	13,25 ± 1,77	14,11 ± 1,46	-
	b*			
NP	11,58 ± 0,99 <sup>bB</sup>	11,80 ± 0,96 <sup>bB</sup>	11,93 ± 0,74 <sup>bB</sup>	11,77 ± 0,87
100 MPa	11,12 ± 0,70 <sup>bB</sup>	12,46 ± 0,42 <sup>bB</sup>	16,58 ± 1,41 <sup>aA</sup>	13,63 ± 2,56
200 MPa	11,19 ± 0,86 <sup>bB</sup>	12,36 ± 0,68 <sup>bB</sup>	16,11 ± 0,91 <sup>aA</sup>	13,22 ± 2,29
Média	11,32 ± 0,86	12,16 ± 0,81	14,58 ± 2,43	-

Médias seguidas pela mesma letra minúscula (tratamento) e letra maiúsculas (grupamento genético) não diferem significativamente pelo teste de tukey ( $p>0,05$ ).

#### 4.1.1. pH

Observa-se que para pH não houve efeito de interação ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos e os grupamentos genéticos, portanto as variáveis são independentes, não existindo diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os grupamentos genéticos e entre os tratamentos.

As médias de pH encontradas no presente estudo para amostras de carne bovina NP, 100 MPa e 200 MPa são consideradas adequadas para a manutenção da vida de prateleira (MACH et al., 2008). De acordo com Poso & Puolanne (2005) o pH final corresponde ao acúmulo de ácido lático que é oriundo da ressíntese do ATP a partir da glicose proveniente das reservas de glicogênio. O manejo pré-abate é um fator que influencia diretamente na qualidade final do produto, pois animais que são colocados sob condições de estresse por um longo período podem ficar fatigados e como consequência utilizar as reservas de glicogênio muscular necessárias no momento pós-abate. Este fato irá acarretar pouca variação do pH da massa muscular em relação a animais abatidos sob condições normais e consequentes problemas tecnológicos que podem causar alterações no produto, influenciando a qualidade final.

Segundo Neath et al. (2007), bovinos alimentados com grãos possuem maior disponibilidade de glicogênio no momento do abate e menor pH final da carne. Corroborando com isto, Muchenje et al. (2009), avaliando o pH de animais castrados da raça Angus, Bonsmara

e Nguni, encontraram valores de pH de 5,6; 5,7 e 5,8, respectivamente, concluindo que os valores adequados de pH podem ser decorrentes de animais mantidos em condições de bem estar animal no momento pré-abate. Portanto, os valores médios encontrados no presente estudo, podem ser reflexo do sistema de terminação (semi-confinamento) associado a condições ante mortem adequadas.

#### **4.1.2. Atividade de água**

Como água é a segunda substância, depois das proteínas, em maior concentração na carne, o sinal de  $^1\text{H}$  domina o decaimento observado com CPMG. Além da água, a gordura também pode contribuir para o sinal de RMN, de acordo com a sua concentração (BERTRAM et al., 2006).

Um método alternativo para diminuir o tempo necessário para medir o teor de umidade na carne bovina é estudar a dependência do tempo de relaxação transversal ( $T_2$ ) obtido a partir do decaimento da CPMG. A curva do decaimento exponencial em amostras de carne normalmente é composta de dois ou mais tempos de relaxação  $T_2$  (BERTRAM et al., 2006; Hall et al., 2006). Da mesma forma, Brondum et al. (2000), analisando amostras de carne suína, afirmaram que a análise biexponencial (modelo de dois componentes) das curvas de relaxamento da CPMG foi considerada apropriada para descrever as amostras musculares. Tornberg et al. (1993), relacionaram o parâmetro  $T_{2\text{menor}}$  com os atributos sensoriais e reológicos da carne, sendo este sinal atribuído à água intracelular.

Já Swatland (1995), afirmou que o tipo de fibra no músculo tem sido frequentemente relacionado aos parâmetros de qualidade de carne. Para tanto, existe uma relação proporcional estreita entre a área transversal de fibra de dois músculos e o resultado ( $T_{2\text{menor}}$ : área de fibra). Este raciocínio vai de encontro com os resultados achados por Tornberg et al. (2000), que realizaram um estudo de RMN em carne bovina, e concluíram que o inchaço post-mortem no sistema miofibrilar, causou aumento da área transversal média, sendo este seguido pelo aumento de  $T_{2\text{menor}}$ .

A tabela 4 mostra valores do ajuste biexponencial ( $T_{2\text{menor}}$  e  $T_{2\text{maior}}$ ) e suas respectivas áreas ( $A_{\text{Menor}}$  e  $A_{\text{Maior}}$ ) para as amostras de carne NP, pressurizadas à 100 MPa e pressurizadas à 200 MPa dos grupamentos genéticos CA, CG e NE.

**Tabela 4.** Resultado da análise de ressonância magnética nuclear (RMN) nos grupamentos genéticos Caracu (CA), Angus x Caracu (CG) e Nelore (NE) com os tratamentos de carnes não pressurizadas, pressurizadas à 100 MPa e 200 MPa

	N	Tratamento	A <sub>menor</sub>	T2 <sub>menor</sub>	A <sub>maior</sub>	T2 <sub>maior</sub>
CA	24	NP	1,266 ± 0,648	0,03 ± 0,001	0,123 ± 0,019	0,17 ± 0,02
		100 MPa	1,213 ± 0,286	0,03 ± 0,001	0,141 ± 0,036	0,16 ± 0,04
		200 MPa	1,115 ± 0,130	0,03 ± 0,001	0,127 ± 0,03	0,16 ± 0,03
CG	24	NP	1,058 ± 0,178	0,03 ± 0,001	0,128 ± 0,023	0,16 ± 0,03
		100 MPa	1,140 ± 0,123	0,03 ± 0,002	0,143 ± 0,040	0,19 ± 0,06
		200 MPa	1,122 ± 0,127	0,03 ± 0,001	0,154 ± 0,032	0,15 ± 0,05
NE	24	NP	1,221 ± 0,172	0,03 ± 0,002	0,175 ± 0,068	0,20 ± 0,061
		100 MPa	1,056 ± 0,097	0,03 ± 0,003	0,168 ± 0,084	0,19 ± 0,058
		200 MPa	1,209 ± 0,175	0,03 ± 0,001	0,166 ± 0,040	0,19 ± 0,054

Não foi observado diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos e nem entre os grupamentos genéticos. Portanto, este resultado está de acordo com os encontrados para os parâmetros PPD e PPP tanto entre os grupamentos genéticos, como entre os tratamentos, pois da mesma forma não foram observadas diferenças significativas para estes parâmetros. Sugerindo que amostras onde não existem diferença de PPD e PPP não diferem em atividade de água. Corroborando com os resultados do presente estudo, Silva (2007), avaliando atividade de água em grupamentos genéticos diversos também não encontro diferença significativa entre os grupamentos.

#### **4.1.3. Perda de peso por pressurização (PPP)**

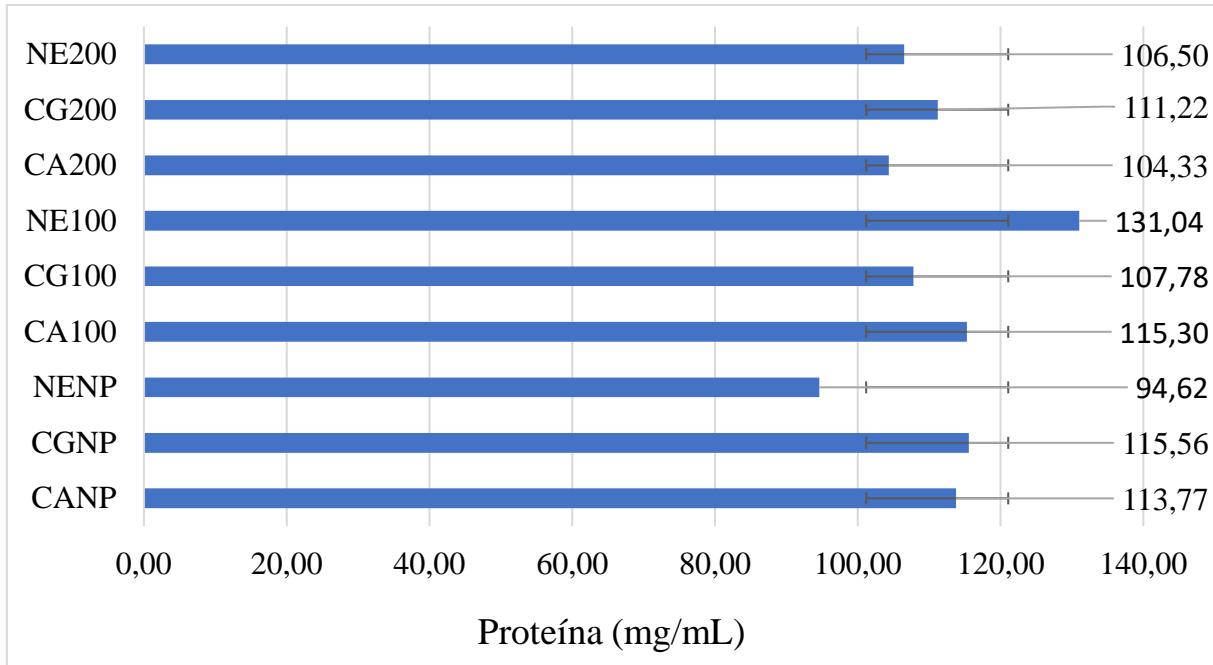
Para avaliação da PPP, foram utilizadas 16 amostras de animais por grupamento genético, sendo 8 destes referentes a cada tratamento (100 MPa e 200 MPa). A tabela 3 apresenta resultados de médias para PPP e nesta não foi observado efeito de interação ( $p>0,05$ ) para grupamentos genéticos e tratamentos, ou seja, estas variáveis são independentes umas das outras.

Foi observado diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre os tratamentos genéticos. Para tanto, a tabela 3 refere-se à comparação de médias encontradas para CA, CG e NE, onde observou-se que a PPP de CA foi superior aos demais grupamentos (CG e NE).

O fato do grupamento CA ter apresentado maior PPP pode ser explicado pelo fato do grupamento ao qual estes animais pertencem apresentarem menor quantidade de gordura intramuscular (gordura de marmoreio) quando comparado a outros grupamentos, prejudicando desta forma a manutenção da umidade destas amostras. De acordo com Lopes (2019), o conteúdo de gordura intramuscular e umidade apresentaram uma alta e negativa correlação ( $r = -0,72$ ), estando este raciocínio de acordo com os resultados obtidos por Pflanzer & Felício (2011), que obteve correlação ainda maior ( $r = -0,92$ ) para as duas variáveis em animais Nelore. Este último autor, infere que este tipo de resultado se torna interessante a medida em que torna possível a predição da quantidade de gordura da carne a partir dos valores de umidade. Ambos os resultados estão de acordo com os encontrados neste estudo, onde foi observado na carne do grupamento onde a maior deposição de gordura intramuscular pode ocorrer a preservação da umidade das amostras quando comprado aos grupamentos que podem apresentar menor grau de marmoreio nas amostras de carne. É importante ressaltar que esta relação está associada com a deposição de gordura nos tecidos e consequentemente na carne. Ao conter mais gordura, a carne perde proporcionalmente em valores de umidade em relação ao total de sua composição, pois a gordura se deposita entre as fibras musculares onde está localizada a maior parte da água do músculo.

#### **4.1.4. Resultado da quantificação de proteínas solúveis do exsudato proveniente do descongelamento e pressurização da carne**

Os resultados encontrados na figura 8 são referentes à quantificação de proteínas proveniente do exsudato de descongelamento das amostras de carne. Como descrito, não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os grupamentos genéticos, nem entre os tratamentos. Estes resultados justificam os encontrados neste mesmo estudo em relação ao comprimento de sarcômero onde, da mesma forma, não foram verificadas diferenças significativas entre os grupamentos e tratamentos.



**Figura 8.** Gráfico da quantificação de proteínas solúveis do exsudato proveniente do descongelamento e pressurização da carne

Quanto a perda de líquido (exsudato) no momento do descongelamento esta é uma característica que pode estar relacionada com a gordura presente em cada amostra, onde quanto mais gordura houver na amostra, mais preservado se mantém o fator umidade. Crouse et al. (1989), Whipple et al. (1990) e Wheeler et al. (1994) encontraram diminuição da espessura de gordura de cobertura (ECG) e gordura de marmoreio em animais mestiços com uma maior participação de zebu. Revisando a literatura sobre a caracterização da raça e parâmetros genéticos para as características de carcaça de bovinos de corte, Marshall (1994) observou que os animais da raça Angus apresentaram maiores valores de marmoreio e ECG em comparação ao Nelore. Os diferentes grupamentos utilizados na produção de carne bovina podem apresentar variações no que tangem a gordura de marmoreio e a espessura de gordura de cobertura, fato que pode proporcionar variações a nível de perda de líquido (exsudato). O presente estudo embora faça comparação entre diferentes grupamentos genéticos, não verificou diferenças no que diz respeito à quantidade de gordura de cobertura, fato que pode ter influenciado a PPD.

#### 4.1.5. Perda de peso por cozimento (PPC)

A tabela 3, apresenta o resultado do efeito da interação entre os grupamentos genéticos e os tratamentos, onde foi observado diferença significativa ( $p>0,05$ ). Para PPC, observa-se que no tratamento NP, os grupamentos genéticos CA, CG e NE não apresentaram diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre si, contudo, em relação aos tratamentos aos quais as amostras de carne foram pressurizadas à 100 MPa, o grupamento NE apresentou similaridade em seus resultados quando comparado aos demais grupos CA e CG, e estes dois últimos foram significativamente diferentes ( $p<0,05$ ) neste tratamento. Houve diferença significativa ( $p<0,05$ ) no tratamento 200 MPa, onde o grupamento CA apresentou maiores valores para PPC quando comparado aos grupamentos CG e NE, sendo estes últimos estatisticamente iguais ( $p>0,05$ ). A diferença estatística encontrada entre os grupamentos genéticos pode ser devido à maior quantidade de gordura de marmoreio encontrada em maior quantidade nas amostras de carne de animais com maior porcentagem de sangue europeu britânico, como no caso do presente

estudo que são os animais Angus x Caracu, o que faz com que as fibras musculares consigam preservar a água em seu interior, diferente do que acontece no grupamento Caracu que apresentou maiores PPC, provavelmente pela menor porcentagem de gordura intramuscular proporcionando com que as suas fibras sejam mais afetadas pela perda.

Em relação aos tratamentos pode-se observar que CA não apresentou diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos NP, 100 MPa e 200 MPa para PPC. CG obteve maior PPC nas amostras NP em relação às amostras pressurizadas 100 Mpa e 200 Mpa apresentando diferença estatística significativa ( $p<0,05$ ), assim como NE teve menores perdas no tratamento de 200 MPa em relação aos demais tratamentos NP e 100 MPa. Por outro lado, Cabral Neto et al. (2015) analisando amostras de carne de zebuínos não observou diferença significativa entre os tratamentos 100, 200, 300 e 400 MPa em relação as amostras *não pressurizadas*, assim como os autores, McArdle et al. (2010), trabalhando com músculo bovino e Kim et al. (2007) estudando o músculo *semitendinosus*.

Em estudo realizado por Fernandes et al. (2016), observaram que tanto para o corte pá, quando para o corte lagarto, dentre as amostras pressurizadas, as que apresentaram menores valores foram as pressurizadas à 100 MPa. Segundo este autor, isto pode ser explicado pela capacidade da alta pressão induzir e aumentar a solubilização das proteínas miofibrilares, tais como actina e miosina em consequência de despolimerização, agregação e desdobramento que, por sua vez, auxilia na formação de matriz de gel mais estável.

McArdle et al. (2010) somente observaram perdas de peso significativas na carne bovina quando submetidas às pressões superiores à 300 MPa, sugerindo um efeito negativo nos níveis mais elevados de pressão sobre as propriedades da ligação de água da carne, o que foi atribuído às alterações miofibrilares relacionadas à contração severa em níveis mais elevados de pressão (JUNG et al., 2000).

De acordo com Monin & Laborde (1985) e Joo et al. (1999), as alterações nas proteínas sarcoplasmáticas que provaram desempenhar um papel importante nas propriedades de ligação da água no músculo de carne fresca podem estar em particular, relacionado à diminuição da perda por cozimento, devido à APH. Marcos et al. (2010) encontraram uma correlação negativa entre a solubilidade da proteína sarcoplasmática e a umidade exprimível em músculo bovino (*longissimus dorsi*) sugerindo que a desnaturação da proteína sarcoplasmática induzida pela pressão pode influenciar negativamente em algumas características de ligação de água em carnes pressurizadas.

#### 4.1.6. Força de cisalhamento (FC)

Foi observado que para FC não houve efeito de interação ( $p<0,05$ ) entre os grupamentos genéticos CA, CG e NE e os tratamentos NP, 100 MPa e 200 MPa, o que caracteriza que as variáveis se comportaram de independentemente (Tabela 5).

**Tabela 5.** Resultado das análises de força de cisalhamento e ganho médio no amaciamento da carne bovina em diferentes grupamentos genéticos com os tratamentos de carnes pressurizadas e não pressurizadas

	N	Tratamento	FC (Kgf)	% de Ganho médio no Amaciamento
CA	24	NP	$5,96 \pm 1,03$	-
		100 MPa	$4,42 \pm 0,95$	25,84 %
		200 MPa	$4,77 \pm 1,26$	19,97 %

**Tabela 5.** Continuação

	N	Tratamento	FC (Kgf)	% de Ganho médio no Amaciamento
CA	24	NP	5,96 ± 1,03	-
		100 MPa	4,42 ± 0,95	25,84 %
		200 MPa	4,77 ± 1,26	19,97 %
CG	24	NP	4,33 ± 1,24	-
		100 MPa	3,71 ± 0,91	14,32 %
		200 MPa	3,20 ± 0,88	26,10 %
NE	24	NP	5,94 ± 1,83	-
		100 MPa	5,70 ± 1,09	4,04 %
		200 MPa	5,23 ± 0,83	11,95 %

Lowder et al. (2014) avaliaram os parâmetros de qualidade da carne bovina submetidas à alta pressão e verificaram que o valor encontrado para a carne sob alta pressão (38,80 N) foi maior quando comparado à carne não pressurizada submetida apenas ao congelamento (29,64 N). Esse mesmo comportamento foi observado por Tokifudi et al. (2013) ao avaliar os efeitos da alta pressão em géis de carne suína, indicando que a alta pressão não apresentou efeito positivo.

Por outro lado, Solomon et al. (2006) avaliando carne bovina pressurizada, observaram cerca de 23% de redução na FC, quando comparou amostras pressurizadas com maturadas em processo tradicional e ressaltou que esta redução ocorreu independente do tempo de maturação da carne concluindo que a APH foi mais efetiva.

Pode ser observado na tabela 3 que CG apresentou menor FC em relação aos grupos CA e NE. Entre CA e NE não foi observado diferença significativa ( $p>0,05$ ). De acordo com Knapp et al. (1989) e Shackelford et al. (1991), pode-se afirmar que o valor encontrado para CG, é considerado como carne macia, pois está abaixo de 45 N (ou 4,5 Kgf), estando próximo dos valores de carnes consideradas muito macias ( $> 36\text{N}$  ou  $> 3,6 \text{Kgf}$ ).

Em relação aos tratamentos, pode-se dizer que NP apresentou maior FC do que 100 MPa e 200 MPa, sobretudo, entre 100 e 200 MPa não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) (Tabela 3).

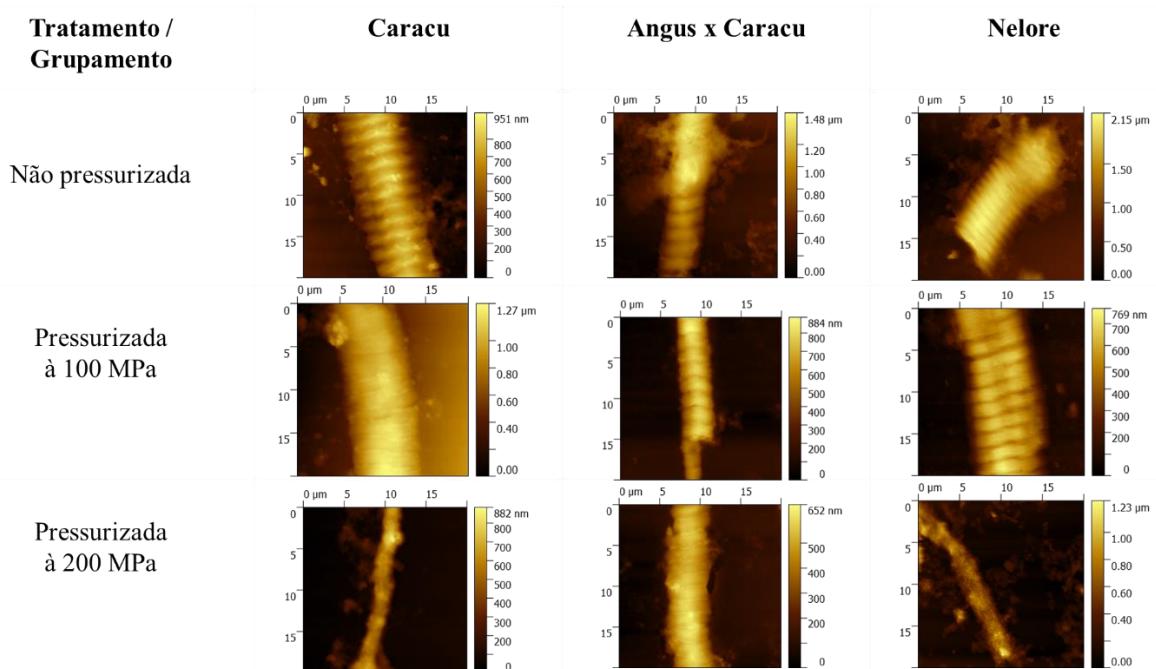
No experimento de Fernandes et al. (2016) foi observado que houve aumento de maciez em todas amostras pressurizadas de pá e lagarto de caititu, contudo, o maior percentual de maciez foi detectado na pressão de 300 MPa, tanto para as amostras de pá, quanto para as de lagarto. Cabral Neto et al. (2015), avaliando amostras de carne de Nelore, obteve redução significativa para valores de FC com amostras pressurizadas à 100 e 200 MPa, quando comparadas às amostras *não pressurizadas*, independentemente do tempo de pressurização. Este autor ressalta que os melhores valores para FC foram encontrados no tratamento 200 MPa, onde as amostras reduziram 21,12% a FC.

Os resultados encontrados por Ma & Ledward (2004), Sun & Holley (2010) e Sikes et al. (2010), corroboram com os resultados deste estudo, onde as carnes bovinas processadas à 200 MPa apresentaram melhoria na maciez.

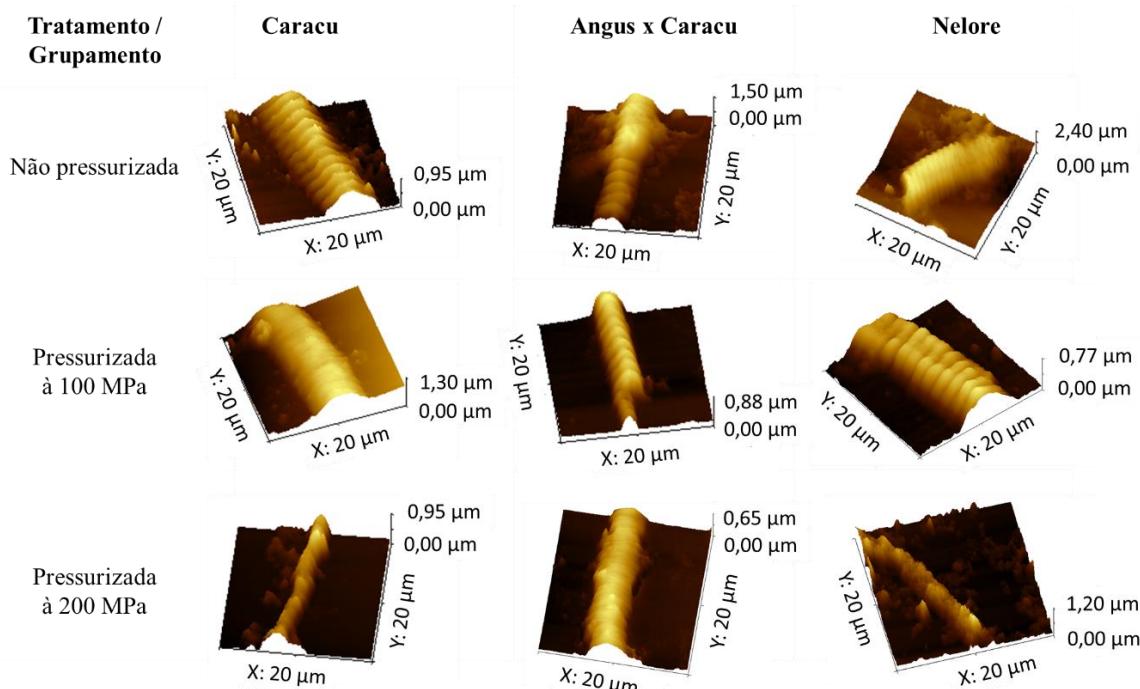
De acordo com Sun & Holley (2010), os efeitos da alta pressão na maciez ou maturação de carnes são dependentes da fase de rigor mortis, pressão, temperatura e da combinação desses fatores. Estes autores, sugeriram que pressões mais baixas ( $<200 \text{ MPa}$ ) podem amaciar carnes em fase de pré-rigor mortis, enquanto para carnes em fase de pós-rigor o amaciamento com a alta pressão só pode ser alcançado em temperaturas mais elevadas (40 a 80°C). Isso ocorre principalmente pela desnaturação por alta pressão das estruturas miofibrilares na fase pós-rigor e da necessidade de temperaturas elevadas na fase de pós-rigor, para que ocorra a gelatinização das estruturas de tecido conjuntivo.

#### 4.1.7. Comprimento de sarcômero (CS)

Para aferição do comprimento do sarcômero, foi utilizado a técnica de microscopia de força atômica (MFA) que possibilitou a formação de imagem das miofibrilas de carnes dos diferentes grupamentos genéticos em cada um dos tratamentos de pressurização para medição deste parâmetro (Figuras 9 e 10).



**Figura 9.** Visão 2D de MFA de miofibrila de amostra de carne



**Figura 10.** Visão 3D de MFA de miofibrila de amostra de carne

A tabela 3 refere-se a resultados de comprimento de sarcômero (CS), onde nota-se que não houve efeito de interação ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos (NP, 100 MPa e 200 MPa) com os grupamentos genéticos (CA, CG e NE), portanto as variáveis analisadas são independentes para o parâmetro comprimento de sarcômero (CS). Para tanto, as médias encontradas para NP, 100 MPa e 200 MPa apresentaram diferença significativa ( $p>0,05$ ).

Alguns autores afirmam que os espaços entre os filamentos variam em relação ao pH, comprimento de sarcômero, força iônica, pressão osmótica e se o músculo está em pré ou pós-rigor. (OFFER & TRINICK, 1983; PUOLANNE & HALONNE, 2010). Martins (2017) realizou experimento testando grupo com diferentes níveis de pH (alto, médio e baixo) e não encontrou diferença significativa ( $P >0,05$ ) para os resultados de CS diante dos vários níveis de pH testados.

O comprimento do sarcômero tem um efeito direto sobre a maciez da carne (PURCHAS & AUNGSUPAKORN, 1993; WHEELER & KOOHMARAIE, 1999), pois músculos com os sarcômeros mais longos oferecem menor resistência ao corte (HERRING et al., 1965). Além disso, alguns autores afirmam que o comprimento do sarcômero tende a aumentar com a diminuição do pH da carne.

Purchas (1990) reporta que o comprimento do sarcômero aumentou de 1,51 para 1,64  $\mu\text{m}$  quando o pH final diminuiu de 6,2 para 5,4. Segundo o mesmo autor, o efeito do pH na faixa de 5,4 a 6,2 sobre valores da força de corte foi mediado, pelo menos em parte, pelo efeito do comprimento de sarcômero, suportando a correlação negativa entre o pH final e o comprimento sarcômero. Resultados similares foram encontrados por Purchas et al. (2002) e Purchas & Aungsupakorn (1993).

Toneto (2012), avaliando amostras de carne de Nelore, e F1 ( $\frac{1}{2}$ Simental x  $\frac{1}{2}$ Nelore,  $\frac{1}{2}$ Canchim x  $\frac{1}{2}$ Nelore e  $\frac{1}{2}$ Angus x  $\frac{1}{2}$ Nelore), testaram diferentes cortes de carne (*longissimus*, *semitendinosus*, *supraspinatus* e *infraspinatus*) e não observaram interação, contudo houve diferença significativa apenas entre os resultados para grupos musculares, não havendo diferença significativa entre grupamentos genéticos. Este autor encontrou os seguintes valores no corte *Longissimus*, 1,75 (Nelore), 1,74 ( $\frac{1}{2}$ Simental x  $\frac{1}{2}$ Nelore), 1,73 ( $\frac{1}{2}$ Canchim x  $\frac{1}{2}$ Nelore) e 1,74 ( $\frac{1}{2}$ Angus x  $\frac{1}{2}$ Nelore).

Portanto, no presente estudo, não foram encontrados resultados significativamente diferentes mesmo investigando grupamentos genéticos distintos. Os valores de média encontrados neste estudo, variaram de 1,8 a 2,05  $\mu\text{m}$ , sendo estes próximos aos observados por Aroeira et al. (2016) (1,97  $\mu\text{m}$  para Nelore e 2,27  $\mu\text{m}$  para Angus) e Ferrari (2016) (1,82  $\mu\text{m}$  para Nelore), mas diferentes dos encontrados por Farias (2016) (1,46  $\mu\text{m}$  para Nelore). Tonissi et al. (2011) por sua vez, analisando amostras de carne de Nelore, encontrou valores variando entre 1,20 a 1,88  $\mu\text{m}$ , com média de  $1,57 \pm 0,14 \mu\text{m}$ . Apesar de não ter havido diferença significativa para CS entre os resultados do presente estudo, Locker & Hagyard (1963) afirmam que o grau de encurtamento muscular depende da temperatura de armazenamento da carcaça e Aroeira et al. (2016) corrobora com este pensamento e ainda reitera que a diferença entre grupamentos genéticos deve ser devido ao resfriamento mais rápido da carcaça de Nelore quando comparado à raça Angus pois o Nelore possui menor quantidade de gordura subcutânea quando comparado às raças europeias.

Segundo Koohmaraie et al. (2002), no período de 24 horas post mortem ocorre o encurtamento do sarcômero que passa de 2,24  $\mu\text{m}$  no momento do rigor mortis à 1,69  $\mu\text{m}$  após a maturação da carne, devido à formação do complexo actomiosina, com a sobreposição dos miofilamentos.

Contrariando os resultados encontrados neste experimento, Bouton et al. (1978) relata que o comprimento de sarcômero aumenta com o teor de gordura em carcaças de bovinos com a mesma idade e pesos diferentes. Os autores verificaram que, em carcaças mais leves (menos

de 250 kg), condições de resfriamento foram suficientes para provocar encurtamento pelo frio, uma vez que a temperatura central da carcaça atinge temperaturas menores mais rapidamente o que não ocorre em carcaças mais pesadas. De acordo com este autor, este fato pode estar relacionado à maior desestruturação do sarcômero, ocorrendo uma maior degradação das proteínas estruturais das miofibrilas e do tecido conjuntivo, resultando em uma carne mais macia, evidenciadas pela força de cisalhamento. Entretanto, neste estudo, não foi observado diferença significativa entre os grupamentos genéticos.

Aroeira (2016) utilizou a técnica de maturação para avaliar o comprimento dos sarcômeros em carnes de Nelore maturadas por 21 dias (1,97  $\mu\text{m}$ ) em comparação com a de Angus não maturada (2,27  $\mu\text{m}$ ), dessa forma, observou a variação da raça na inconsistência da degradação estrutural do sarcômero.

Apesar de no presente experimento não ter havido diferença significativa entre os tratamentos e grupamentos genéticos, os resultados encontrados estão todos próximos aos valores de referência para carnes consideradas macias. Segundo Smulders et al. (1990), há uma forte correlação entre o comprimento do sarcômero e a maciez sensorialmente percebida, a partir de 1,8  $\mu\text{m}$ , no qual valores superiores estão associados à maciez da carne. Já Buton et al. (1973), Smulders et al. (1990) e Wheeler et al. (2000) afirmam que a dureza da carne é percebida inicia-se com valores abaixo de 2,0  $\mu\text{m}$ . Entretanto, Ishihara et al. (2013) também provou que a análise do comprimento do sarcômero foi mais precisa do que a análise sensorial e a força de cisalhamento.

Wheeler et al. (2000) sugere que a variável CS seja tratada em dois grupos distintos (sarcômeros  $> 2,0 \mu\text{m}$  e sarcômeros  $< 2,0 \mu\text{m}$ ) pois interagem de maneiras diferentes de acordo com o grau de proteólise e o conteúdo de colágeno de cada amostra. Segundo estes autores, enquanto a maior rigidez da carne é independente das variáveis proteólise e colágeno em amostras de sarcômero  $> 2,0 \mu\text{m}$ , em amostras com sarcômeros  $< 2,0 \mu\text{m}$  ambas as variáveis (proteólise e colágeno) estão relacionadas à maior rigidez da carne. Os resultados deste autor corroboram com os encontrados por Bouton et al. (1973) que afirmam que o efeito do colágeno é alto no músculo e as alterações no componente miofibrilar têm efeito relativamente menor na percepção subjetiva de sensibilidade. Assim, o tecido conjuntivo pode ser outro fator intrínseco que pode estar associado às diferenças encontradas na FC de carnes de animais Nelore e Angus x Caracu no presente experimento.

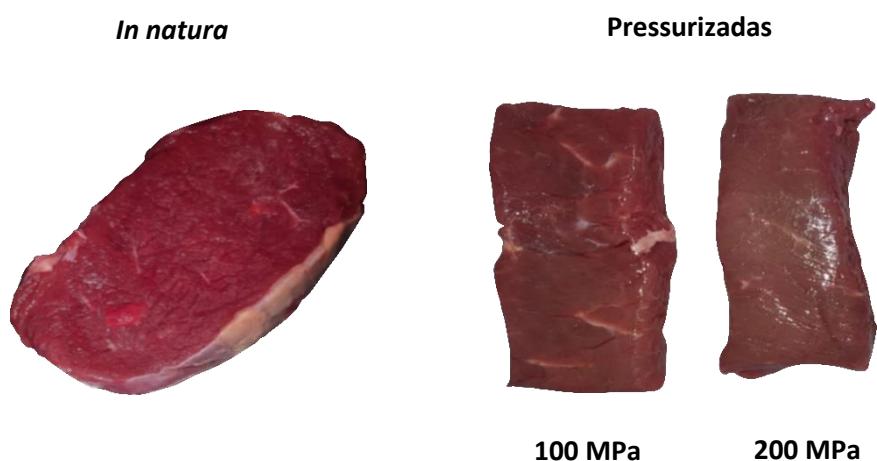
De acordo com Corbin et al. (2015), os efeitos na qualidade, aceitação e sabor da carne estão relacionados a quantidade de gordura presente na carne, onde, quanto mais gordura, maior palatabilidade da carne e notas altas para sabor. Neste experimento, avaliou-se diferentes grupamentos genéticos Caracu (taurino adaptado, sendo considerado um grupo intermediário em relação à precocidade), Nelore (zebuíno, sendo considerado tardio em comparação aos demais grupamentos) e Angus x Caracu ( $\frac{1}{2}$  taurino britânico e  $\frac{1}{2}$  taurino adaptado, sendo considerado o mais precoce em comparação às demais raças devido ter 50% de sangue de taurinos britânicos que em sua maioria são considerados precoces), contudo, apesar haver diferença entre os graus de sangue genéticos, não foi observado diferença significativa entre o comprimento de sarcômero diante dos diferentes grupos. Portanto, estes resultados não estão de acordo com os encontrados por Chambaz et al. (2003) que avaliaram quatro raças de bovinos de corte *Bos taurus*, uma precoce (Angus) e três tardias (Simental, Charolês e Limousin) sendo estes abatidos com 3,25% de gordura intramuscular (leve marmoreio), resultando portanto em distintos períodos de abate e tamanhos de carcaça e concluíram que apesar do marmoreio ser igual entre os animais, a raça Angus teve melhores resultados nos testes sensoriais e de preferência, devido a maiores comprimentos de sarcômeros.

#### 4.1.8. Cor da carne

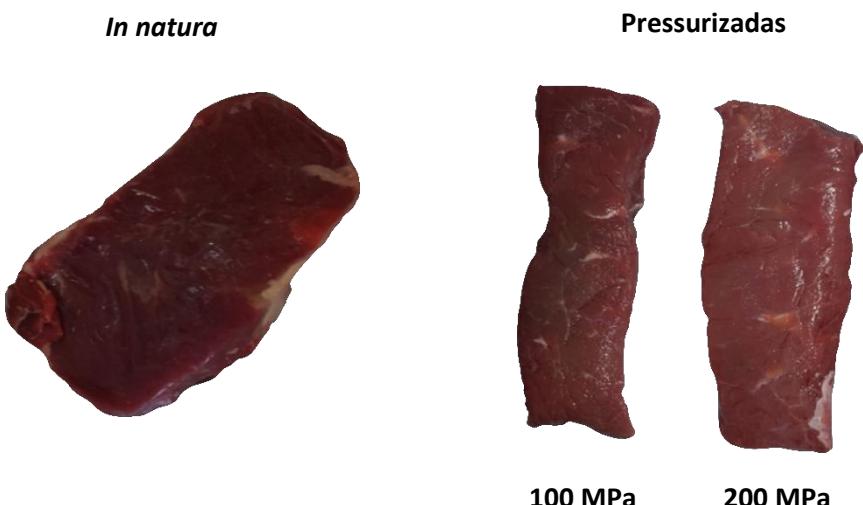
As figuras 11, 12 e 13, apresentam a avaliação visual em relação à cor da carne em amostras de *longissimus dorsi* de animais CA, CG e NE, respectivamente. A avaliação para mensuração da cor da carne foi feita através de colorímetro, utilizando o sistema colorimétrico CIE  $L^*a^*b^*$ , onde  $L^*$  representa a luminosidade das amostras,  $a^*$  representa a intensidade de vermelho e  $b^*$  representa a intensidade de amarelo.



**Figura 11.** Observação visual de amostras de carne *não pressurizada*, pressurizada à 100 MPa e pressurizada à 200 MPa de animais pertencentes ao grupamento Caracu



**Figura 12.** Observação visual de amostras de carne *não pressurizada*, pressurizada à 100 MPa e pressurizada à 200 MPa de animais pertencentes ao grupamento Angus x Caracu



**Figura 13.** Observação visual de amostras de carne *não pressurizadas*, pressurizadas à 100 MPa e pressurizadas à 200 MPa de animais pertencentes ao grupamento Nelore

#### 4.1.8.1. Luminosidade (L\*)

A tabela 3, apresenta valores de médias de luminosidade (L\*), onde houve efeito de interação significativa ( $p<0,05$ ) entre os grupamentos e tratamentos analisados. Portanto, para este parâmetro as variáveis são dependentes. Nas amostras NP e nas pressurizadas à 200 MPa não foi observado diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os grupamentos CA, CG e NE. Entretanto, no tratamento 100 MPa, a L\* foi menor em amostras de NE quando comparado aos grupamentos CA e CG, sendo estes últimos estatisticamente semelhantes ( $p>0,05$ ) para este tratamento.

Entre CA e CG não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos (NP, 100 MPa e 200 MPa). Contudo, foi observado diferença significativa ( $p<0,05$ ) para L\* no grupamento NE, entre os tratamentos NP que apresentou valores superiores quando comparados ao tratamento 100 MPa. Sobretudo, não foi observado diferença significativa ( $p>0,05$ ) do grupamento NE diante dos tratamentos NP e 200 MPa, assim como ocorreu quando 100 MPa e 200 MPa foram comparados neste mesmo grupamento genético.

Cabral Neto et al. (2015) observou interação entre a pressão e o tempo de pressurização aplicado a amostra para o fator L\*, contudo, não houve efeito significativo ( $p>0,05$ ) até a pressão de 200 MPa em relação as amostras *não pressurizadas* e o uso de pressões de 100 ou 200 MPa não alteraram a L\* da carne quando comparado às amostras *não pressurizadas*.

Fernandes et al. (2016), avaliando carne de caititu, observaram que para o corte pá houve decréscimo significativo de luminosidade na pressão 200 MPa (60,57 para 57,16). Este mesmo autor, avaliando o corte lagarto observou que este fenômeno foi observado nas pressões 100 e 300 MPa, corroborando com este estudo.

Foi observado que com o aumento da pressão ocorre um aumento do fator L\*. Resultados semelhantes foram encontrados por McArdle et al. (2010) (31,3 para 35,5), Marcos et al (2010) (24,04 para 30,74), Marcos & Mullen (2014) (26,07 para 33,20) e Cabral Neto et al. (2015) (31,58 para 31,90). Entretanto, de acordo com Purchas (1988), o valor aceitável para o fator L\* em carne bovina seria de 24 a 39 estando todas as amostras de carne deste experimento, sejam elas pressurizadas ou não, dentro desta faixa.

De acordo com Grossi et al. (2012), as diferenças no valor de L\* podem ser explicadas pelas mudanças nas proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares, resultando em alterações na superfície da carne, bem como da desorganização das miofibrilas, levando a um aumento de

reflecção da luz. Desse modo, as alterações que ocorrem na matriz do produto pressurizado influenciam a refletância. Goutefongea et al. (1995) afirmam que o efeito do clareamento induzido pelo aumento de pressão tem sido relacionado à coagulação proteica, que afetaria a estrutura da superfície da carne. Outros autores sugerem que este fato ocorre devido a desnaturação da globina e deslocamento ou retirada do grupo heme (CARLEZ et al., 1995). Mussa (1999) concluiu que a cor mais clara na carne também pode ser o resultado de mudanças no conteúdo de água.

#### **4.1.8.2. Intensidade de vermelho (a\*)**

As médias para fator a\* são listadas na tabela 3, onde nota-se que houve interação significativa ( $p<0,05$ ) entre os tratamentos e grupamentos genéticos. Todavia, para as variáveis são dependentes para o parâmetro intensidade de vermelho. Cabral Neto et al. (2015) também encontrou interação entre a pressão e o tempo de pressurização para este parâmetro, onde observou valores inferiores para as amostras pressurizadas em relação às amostras *não pressurizadas*.

Contudo, para este estudo, não houve diferença significativa entre nenhum dos tratamentos (NP, 100 MPa e 200 MPa) para os grupamentos CA e NE. Para CG, foi observado diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre NP que apresentou valores maiores do que os demais tratamentos 100 MPa e 200 MPa, contudo, para estes grupamentos, os valores de a\* não tiveram diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos 100 e 200 MPa.

Para o tratamento NP foi observado diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os grupos NE e CG, mas CA apresentou valores inferiores a estes dois grupamentos genéticos, apresentando diferença significativa ( $p<0,05$ ). Na pressurização à 100 MPa, o NE apresentou diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ), obtendo valores maiores quando comparados aos grupamentos CA e CG, sendo estes dois últimos semelhantes estatisticamente para esta pressão. CG não apresentou diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre CA e NE para o tratamento 200 MPa. Foi observado diferença significativa ( $p<0,05$ ) nas amostras entre CA e NE pressurizadas à 200 MPa, onde NE obteve valores maiores do que CA.

Assim como ocorreu neste estudo, Fernandes et al. (2016) não encontrou diferença significativa entre os tratamentos de um mesmo grupamento genético, contudo, para as amostras de pá pressurizadas, foi observado aumento significativo quando estas foram comparadas às amostras *não pressurizadas*, enquanto nas amostras do corte lagarto não foram encontradas diferenças significativas. Este autor ressalta que o aumento de a\* nas amostras pressurizadas é dado como um fator positivo pois torna a carne mais atrativa ao consumidor. Carlez et al. (1995) relataram não haver diferença significativa nos valores de a\* de carnes bovinas tratadas com pressões até 400 MPa.

Cappelletti et al. (2015), avaliando efeito da alta pressão sobre a cor da carne suína, observaram que o valor de a\* diminuía durante o tratamento de alta pressão enquanto o valor de L\* aumentava, no intervalo de 5 a 60 minutos.

Villamonte et al. (2013) analisaram os parâmetros de cor da carne suína cozida processada por alta pressão (0,1 e 350 MPa) e observaram um decréscimo nos valores de a\* (1,37 e 1,76). McArdle et al. (2013) estudaram os efeitos da APH em carne de cordeiro e reportaram que não houve diferença significativa para o parâmetro a\* entre amostras submetidas à 400 e 600 MPa.

#### **4.1.8.3. Intensidade de amarelo (b\*)**

Como observado na tabela 3, houve interação significativa ( $p<0,05$ ) entre os tratamentos e grupamentos analisados para o fator b\*. Com isso, pode-se afirmar que para a intensidade de amarelo, (b\*), as variáveis são dependentes. Pode-se dizer ainda que não houve diferença

significativa ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos (NP, 100 MPa e 200 MPa) nos grupamentos CA e CG. Contudo, houve diferença significativa ( $p<0,05$ ) para o NE, onde o tratamento NP apresentou valores menores quando comparado os demais tratamentos pressurizados 100 MPa e 200 MPa, sendo os valores de NE pressurizados à 100 e 200 MPa semelhantes.

Analizando os tratamentos pode-se dizer que para NP não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os grupamentos (CA, CG e NE). Contudo, o grupamento NE apresentou diferença significativa ( $p<0,05$ ), obtendo valores maiores em relação ao grupamento CA e CG para os tratamentos 100 MPa e 200 MPa, mas estes dois últimos grupamentos, quando comparados no grupamento NE não tiveram diferença significativa ( $p>0,05$ ) nos tratamentos pressurizados.

Fernandes et al. (2016) analisando carne de caititu, observaram que houve decréscimo significativo nas amostras de pá, diante do parâmetro  $b^*$  para amostras pressurizadas à 200 MPa quando comparadas às amostras NP e 100 MPa. Contudo, este mesmo autor, analisando amostras de lagarto observou que os valores encontrados nas amostras pressurizadas à 200 MPa foram semelhantes às amostras NP, entretanto, estes foram maiores significativamente dos valores encontrados nas amostras pressurizadas à 100 MPa.

Cabral Neto et al. (2015) analisando carne bovina pressurizada, observou diminuição significativa para  $b^*$  em relação às carnes pressurizadas à 100, 200 e 300 MPa quando comparados as amostras controle.

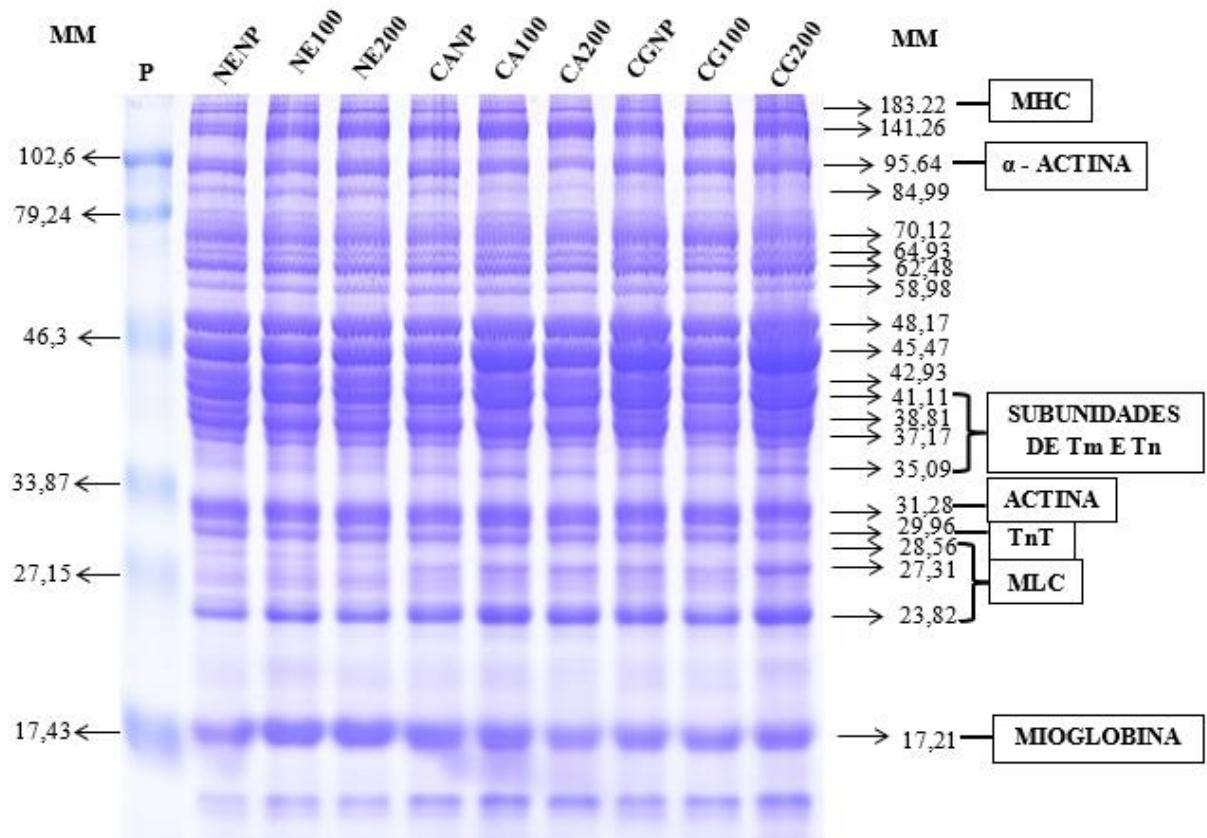
Carlez et al. (1995) relataram não encontrar diferença significativa nos valores de  $b^*$  em carnes bovinas tratadas com pressões até 400 MPa. De acordo com este autor o aumento nos valores de  $b^*$ , devido a APH, podem ser atribuídos à formação de metamioglobina, corroborando com Goutefongea et al. (1995) que relacionaram o aumento de  $b^*$  à mudanças no estado químico da mioglobina, pois observou que o tratamento de 600 MPa (20°C por 30 min) aumentou os valores de  $b^*$  na carne picada. Cabral Neto et al. (2015), diante de seus estudos, afirma que, para amostras acima de 300 MPa há uma tendência de retorno de valor para próximo do encontrado na carne *não pressurizada*.

#### **4.9. Efeito da APH e Grupamentos Genéticos Sobre o Perfil de Proteínas**

Como já foi citado por diversos autores (KIM et al., 1993; IKEUCHI et al., 2002; YAMAMOTO et al., 2005; IKEUCHI et al., 2006; MA & LEDWARD, 2013; NISHIUMI, 2017), a APH pode influenciar diretamente na ação das enzimas proteolíticas da carne, proporcionando o amaciamento. Portanto, as alterações das proteínas miofibrilares podem ser úteis para avaliar a degradação enzimática que ocorre durante o processo de maturação da carne.

O estudo do efeito comparativo da APH diante diferentes grupamentos genéticos (CA, CG e NE) e pressões (100 e 200 MPa) sobre o perfil eletroforético na presente pesquisa foi realizado em relação às proteínas miofibrilares actina e miosina, por constituírem a maior parte da estrutura proteica, além da mioglobina, uma importante proteína sarcoplasmática.

Na figura 14, pode-se observar o gel de poliacrilamida contendo as cadeias polipeptídicas provenientes das diferentes amostras e, apesar de pequenas diferenças na intensidade da coloração de algumas bandas de proteínas, estas não foram suficientes para sugerir alteração entre os tratamentos em cada um dos grupamentos genéticos. Contudo, foi observado diferenças de presença de bandas proteicas no grupamento Nelore que não apareceram em grupamentos Caracu e Angus x Caracu, assim como também foi observado bandas nestes dois últimos grupamentos citados que não estavam presentes em Zebuíños (Nelore), independente do tratamento adotado.



**Figura 14.** Perfil proteico por SDS-PAGE do músculo *Longíssimus dorsi* de bovinos Nelore (NE), Caracu (CA) e Angus x Caracu (CG) sob os tratamentos de pressurização à 100 MPa, 200 MPa ou não pressurizados.

Os extratos foram provenientes de carne *não pressurizada* (NP), pressurizadas à 100 MPa (100) e à 200 MPa (200) dos grupamentos genéticos Caracu, Angus x Caracu e Nelore. Na figura 14, pode-se observar a cadeia pesada da miosina (MHC),  $\alpha$ -actina, subunidades de troponina (Tn) e tropomiosina (Tm), actina, troponina-T (TnT), cadeia leve de miosina (MLC) e mioglobina, conforme as bandas proteicas marcadas na figura. Além disso, um conjunto de bandas foi detectado na área do gel atribuído à um peso molecular variando de 48,17 a 42,93 KDa, 70,12 a 58,98 KDa e uma banda separada com 84,99 KDa.

As proteínas miofibrilares que se caracterizam na contração muscular, estando portanto relacionadas à maciez da carne, mostraram-se presentes nos extratos em estudo, na seguinte forma (Figura 14): a) uma banda fortemente corada de 182,22 KDa, que representa a cadeia pesada da miosina (MHC); b) uma banda densa e fortemente corada de 95,64 KDa, que representa a  $\alpha$ -actina; c) quatro bandas fortemente coradas de 41,11; 38,81; 37,17 e 35,09 KDa, representando as subunidades de troponina (Tn) e tropomiosina (Tm); d) uma banda densa e fortemente corada de 31,28 KDa, representando a actina; e) uma banda de 29,96 KDa, representando a degradação da troponina T (TnT); f) três bandas de 28,56; 27,31 e 23,82 KDa, que representam as cadeias leves de miosina (MLC); g) uma banda densa e intensamente corada de 17,21 KDa que representa a mioglobina.

Das 21 cadeias polipeptídicas identificadas nas amostras, não foi observado diferença de coloração e desaparecimento de bandas entre os tratamentos utilizados em cada grupamento genético. Contudo, foi detectado o desaparecimento e/ou aparecimento de bandas (27,31 e 28,56) da MLC, diante dos diferentes grupamentos genéticos.

Wu et al. (2014) avaliaram o efeito da mudança de pH em amostras de carne de bovinos Angus e mestiços de Angus e, pontuaram diferenças encontradas para a cadeia pesada de miosina, onde, em pH alto ( $\geq 6,2$ ) a banda de miosina desapareceu com 1 dia post-mortem; em pH baixo ( $\leq 5,79$ ) a banda desapareceu com 2 dias post-mortem e em pH intermediário (5,80 a 6,19) que a banda não alterou com 2 dias e com 7 dias ainda era detectável. Estes autores concluíram que as alterações nas isoformas da cadeia pesada da miosina e sua associação com proteínas grandes, como a titina e a nebulina, em momentos muito próximos ao post-mortem sugerem que um colapso estrutural muscular seja iniciado na banda A (linha I) ao invés de ocorrer modificação diretamente na linha Z. O resultado deste estudo assim como os encontrados por Huff-Lonergan et al. (2010) e Kolczack et al. (2003) corroboram com os achados neste experimento pois os autores relatam que a cadeia pesada de miosina em carnes com pH intermediário, não apresentou mudanças em amostras de carne de diferentes raças bovinas. Por outro lado, Marino et al. (2013) encontrou menores pesos moleculares na MHC para a raça Podolian em comparação com a raça Romagnola, justificando que a diminuição encontrada na carne de Podolian poderia ser atribuída a maior susceptibilidade à degradação enzimática de amostras de carne desta raça e confirmou isto pela maior porcentagem de polipeptídeos (de 170 a 138 KDa) encontrados através de espectrometria de massa na porção MHC desta raça.

As cadeias leves de miosina (MLC) pertencem à fração miofibrilar das proteínas da carne, mas elas também podem ser detectadas na fração sarcoplasmática do envelhecimento da carne (WU et al., 2014). Marino et al. (2014) em estudo com proteômica sarcoplasmática em amostras de carne bovina das raças Podolian, Friesian e Romagnola x Podolian, mostraram que existe variação dependente do padrão da raça para as cadeias leves de miosina. Estes autores, encontraram 3 frações atribuídas às proteínas miofibrilares na fração solúvel após 21 dias post-mortem. Essas proteínas foram identificadas como cadeia leve 1 (MLC1), miosina de cadeia leve reguladora 2 (MLC2) e cadeia beta da tropomiosina (TPM $\beta$ ) e encontraram as três frações sarcoplasmáticas apenas nas amostras da raça Podolian. Estudos anteriores (JIA et al., 2009; ANDERSON et al., 2011) também detectaram proteínas miofibrilares nas frações de proteínas sarcoplasmáticas, destacando uma relação entre o aumento das proteínas miofibrilares na fração solúvel e sensibilidade. No presente estudo, também observou-se diferença na MLC diante dos grupamentos genéticos avaliados, onde observou-se que a banda 27,31 KDa esteve presente apenas nos grupamentos genéticos Caracu e Angus x Caracu (ambos *Bos taurus*) e da mesma forma, a banda 28,56 KDa foi observada apenas no grupamento de animais Nelore (*Bos indicus*). Ambas observações ocorreram independente dos tratamentos inferidos. Sugere-se que estas proteínas (28,56 KDa e 27,31 KDa), ambas pertencentes à cadeia leve de miosina, possam ser a mesma com diferentes isoformas e por isso, a diferença no peso molecular entre as mesmas pode ser observado. Cabe ressaltar que a diferença encontrada pode estar relacionada à constituição genética dos grupos utilizados (Caracu – CA, Angus x Caracu -CG e Nelore - NE), evidenciando alterações no perfil de proteínas. Para tanto, diante da revisão de literatura feita por Lana & Zolla (2016), pode-se afirmar que existem resultados interessantes evidenciando a importância da genômica no campo da maciez da carne, porque o grau de amaciamento pode variar dependendo do tipo alélico da caracterização do animal.

Longo et al. (2015) demonstrou que o envelhecimento ao longo do tempo, para gado Piemontês, mostrou uma fragmentação evidente da actina, inferida pela tendência ascendente de um fragmento de 31 KDa, cuja importância também é expressa por seu papel marcador apoptótico (XANG et al., 1998). Já Laville et al. (2009) detectaram uma banda de 31 KDa, referente ao fragmento de actina com regulação positiva na carne macia de touros jovens da raça Charolês em comparação com amostras de carne mais dura de animais da mesma raça e mesma idade. Diante desses dados, sugere-se que a actina pode ser um marcador para maciez. Outro estudo que cursa com este raciocínio é o experimento proteômico realizado por Chaze et

al. (2013). Sobretudo, para alguns autores (GUILLEMIN et al., 2011), a actina poderia ser melhor considerada como marcador de amaciamento em andamento pois, comparando amostras de *l. thoracicus* extirpados imediatamente após o abate de animais de mesma espécie e idades correlatas não mostrou a presença da actina na parte do interatoma relacionado à maciez, inferindo que o discriminante seja os diferentes momentos da coleta da amostra, pois imediatamente após o abate não houve detecção do fragmento de 31 Kda e com 5 a 21 dias post-mortem este fragmento tenha aparecido. Em outras palavras, a actina pode ser um indicador do grau de amaciamento, e seu fragmento só pode ser detectado quando um certo grau de sensibilidade é atingido. Pesquisas recentes apoiam esta ideia (LAN et al., 2015; LONGO et al., 2015). Esta questão não deve ser inequivocamente interpretável pois em estudos fosfoproteômicos, realizados em 2012 (D'ALESSANDRO & ZOLLA, 2012) em carne bovina de animais da raça Chianina, os pesquisadores notaram um nível mais alto de fosforilação de um peptídeo de actina particular e diante deste achado, o nível deste fragmento de actina fosforilada foi inversamente proporcional à clivagem e à ativação das caspases efetoras, ou seja, a carne da raça Chianina, com textura resistente, mostrou-se menos inclinada a apoptose. Estes autores acreditam que isto é uma evidência convincente das ligações entre actina, apoptose e sensibilidade, sobretudo, enquanto o fragmento de 31 KDa da actina mostra uma correlação com sensibilidade e amaciamento contínuo, a fosforilação da actina demonstra uma correlação positiva com a maciez e uma correlação negativa com a apoptose.

A troponina é um complexo heterotrimérico (TnC, TnI e TnT) com suas subunidades. O mecanismo de amaciamento atua sobre todos eles e a proteômica utiliza-os como marcadores para a proteólise em curso, especialmente a TnT em bovinos (IWANOWSKA et al., 2010). As troponinas juntamente com a subunidade de ligação ao cálcio e ao inibidor da subunidade do complexo troponina são proteínas reguladoras que realizam a interação actomiosina e a contração muscular (MARINO et al., 2013). A troponina T é conhecida por se degradar principalmente no peptídeo de 30 KDa durante o post-mortem, e este fato é mostrado por diversas pesquisas (BOWER et al., 2008; HUFF-LONERGAN et al., 2010 e ROWER et al., 2004) que degradaram a TnT neste peso molecular comprovando que o produto da TnT aumenta com o post-mortem muscular e portanto, está associado à amaciamento. Os achados por estes autores corroboram com os valores de peso molecular encontrado nesta pesquisa, onde a banda de 29,96 KDa foi atribuída à produto da degradação da TnT.

No estudo de Muroya et al. (2004), os peptídeos bovinos de 30 KDa foram mostrados junto com outros fragmentos, podendo estes terem sido originados também da degradação da TnT, sendo todos com diferentes sequências e pesos moleculares. Portanto, este autor afirma que o padrão de fragmentação da TnT no post-mortem da carne, depende da composição do músculo, podendo a TnT ser subfragmentada em 4 fragmentos rápidos e 1 lento. No estudo de Laville et al. (2009), com touros Charolês, a TnT rápida foi identificada intacta na fração solúvel e estes autores afirmam que este conteúdo em carne mais dura é maior no dia 0 e depois de 3 semanas post mortem essa relação é revertida, com a carne macia mostrando maior abundância de TnT. Para tanto, Lana & Zolla (2016) afirmam que TnT poderia ser considerada um marcador descritivo da maciez da carne somente após seus níveis relativos ao longo do post-mortem, lembrando que a tendência da carne mais macia é aumentar a expressão de TnT ao longo do tempo, enquanto que carnes mais resistentes, a TnT tende a manter um estado estacionário de expressão. Neste sentido, Franco et al. (2015) afirma que a carne DFD avaliada em seu experimento mostrou-se mais sensível e menos rica em TnT.

Huff-Lonergan et al. (1996), Kitamura et al. (2005) e L-ametsch et al. (2004) sugerem que a degradação da troponina T possivelmente leva à fragmentação das miofibrilas, interrompendo a sua interação com outros componentes do filamento de actina. Assim, a degradação da desmina e TnT pode estar diretamente ligada à atividade da calpaína usando modelos in vitro.

Na proteômica, a TnT (30 KDa) é usada como marcador para proteólise de carne bovina (IWANOWSKA et al., 2010) e na carne de porco (SZALATA et al., 2005). Bhat et al. (2018) afirma que segmentos polipeptídicos de 28 a 30 KDa são obtidos a partir da degradação de TnT intacta por calpaína. Para tanto, a degradação da TnT foi utilizada em estudos pioneiros voltados à predição da maciez da carne (SUN et al., 2014).

A tropomiosina (Tm) é outra parte constitutiva do filamento fino e é fundamental na regulação da contração muscular normal devido à sua obstrução esférica do local de ligação da miosina à actina (mamíferos) (LANA & ZOLLA, 2016). De acordo com Gunning et al. (2008), no músculo estriado, existem 3 isoformas de Tm (1, 2 e 3). Em estudo realizado por Scellini et al. (2015), com avaliação de coelhos, ficou demonstrado que a composição da isoformas influencia a contração e o desenvolvimento da força do músculo esquelético em coelhos, bem como o comprimento de sarcômero. Bouton et al. (1973) e Herring et al. (1965) afirmam que a relação da maciez da carne e comprimento de sarcômero são bem conhecidos e, portanto, pode ser inferida uma influência indireta na composição da Tm na maciez da carne. Portanto, a Tm de um músculo pode ser vista como um bom indicador para o grau de maciez da carne, mediante a quantificação do teor de porcentagem de cada isoformas no músculo sob investigação. D'Alessandro & Zolla (2012), em pesquisa sobre Tm na carne de bovinos da raça Chianina, detectaram uma fosforilação diferencial para a isoformas Tm2, que pode ser importante para facilitar a desintegração do disco Z. Já Carvalho et al. (2014), associou Tm à força de cisalhamento (FC) em comparação de carnes macias e duras de bovinos Nelore, onde a isoformas Tm1 foi detectada como a proteína diferencial com diferentes porcentagens de 57,7 % mostrando uma correlação positiva entre a FC, ou seja, quanto menor a FC, menor será os níveis de Tm1. Contudo, de acordo com Lana & Zolla (2016), os vínculos entre a maciez e a Tm, se houver, ainda precisam ser estudados e divulgados.

Cabral Neto et al. (2015), avaliando carne de zebuínos da raça Nelore observou que as amostras pressurizadas (200 MPa) apresentaram menor intensidade de banda na cadeia pesada de miosina, enquanto a carne maturada apresentou intensidade menor ainda quando comparada as amostras pressurizadas. Já Ko & Hsu (2002) afirmaram que bandas de proteínas acima de 97 KDa desapareceram com o tratamento de alta pressão (200 e 300 MPa). Estes resultados não estão de acordo com o presente estudo pois não foi observado diferença para de intensidade de coloração para a MHC entre nenhum dos grupamentos genéticos testados, assim como não houve diferença entre os tratamentos em um mesmo grupamento.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com os encontrados por Cabral Neto et al. (2015) e Scheibenzuber et al. (2002), em que verificaram alterações nas proteínas miofibrilares avaliadas por eletroforese SDS-PAGE decorrentes de tratamentos a diferentes pressões, em particular a solubilização da miosina, dependem da magnitude e da duração da pressão aplicada.

## 5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a diferença atribuída a área de olho de lombo entre os grupamentos genéticos deve-se ao fato do Nelore apresentar uma estrutura corporal que quando comparada aos demais grupos apresenta maior largura dorso-lombo, evidenciando para estes animais, neste estudo, maior Área de Olho de Lombo.

Os resultados dos tratamentos (100 e 200 MPa), independentes do grupamento genético, para força de cisalhamento e intensidade de amarelo podem ser explicados pelo fato da APH induzir o aumento da atividade proteolítica e com isso, proporcionar maior amaciamento que ocorre devido às alterações do tecido da carne induzidas por enzima/substrato, ou por mudanças nas proteínas. A diferença encontrada para a intensidade de amarelo, pode ser atribuída à formação de metamioglobina devido a APH ocasionar mudanças no estado químico da mioglobina.

Os resultados encontrados para as análises de PPD e PPP estão de acordo com os encontrados na RMN, onde não foram observadas diferenças significativas entre os grupamentos e entre os tratamentos. Tais resultados também podem ser avaliados no concerne às análises de força de cisalhamento (interação), comprimento de sarcômero e às imagens obtidas pelo eletroferograma bem como pela MFA onde as mesmas sugerem que não houve diferença em estruturas microscópicas (miofibrilas), contudo, como pode-se observar nas imagens de MFA e na análise da FC, possivelmente as estruturas macroscópicas da fibra de carne foram afetadas. Portanto neste estudo, o efeito da APH até 200 MPa ocorreu apenas à nível tissular.

De acordo com este estudo, a não diferença entre os grupos genéticos é benéfica para o setor produtivo, o que mostra que a qualidade de carne é boa, independente do grupamento genético estudado. Assim, apesar da carga genética ser diferente, a adaptação dos grupos parece ser um fator padronizante nos aspectos analisados para qualidade de carne.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABERLE, E. D.; FORREST, J.C.; GERRARD, D. E.; EDWARD, W.M. Principles of meat science. Iowa: Kendall//Hunt Publishing Company, 2001.
- ABRIL, M.; CAMPO, M.M.; ONENÇ, A.; SAÑUDO, C.; ALBERTÍ, P.; NEGUERUELA, A.I. Beef colour evolution as a function of ultimate ph. *Meat Science*. v. 58, n. 1, p. 69-78, 2001.
- ALVARADO C.Z.; SAMS A.R. Rigor mortis development in tukey breast muscle and the effect of electrical stunning. *Poultry Science*, v.29, p. 1694-1698, 2000.
- ALVES, D. D.; GOES, R. H. T. B.; MANCIO, A. B. Maciez da carne bovina. *Ciência Animal Brasileira*, v. 6, n. 3, p. 135-149, 2005.
- AMSA. American Meat Science Association. Research guideliness for cookery sensory and instrumental tenderness measurement of fresh meat. 1995. 48 p.
- ANDERSON, M. J.; LONERGAN, S. M.; HUFF-LONERGAN, E. Myosin light chain 1 release from myofibrillar fraction during postmortem aging is a potential indicator of proteolysis and tenderness of beef. *Meat Science*, v.90, p.345–351, 2011.
- ANDRADE, P.L.; BRESSAN, M.C.; GAMA, L.T.; GONÇALVES, T.M.; LADEIRA, M.M.; RAMOS, E.M. Qualidade da carne maturada de bovinos Red Norte e Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, n.8, p.1791-1800, 2010.
- ANGSUPANICH, K.; EDDE, M.; LEDWARD, D. A. Effects of high pressure on the myofibrillar proteins of cod and turkey muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 47, n. 1, p. 92–99, 1999.
- ARIEIRA, J.O.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; FUSCO, J.P.A.; GIMENES, R.M.T.; STECA, J.M. Um comparativo de produtividade entre raças de gado de corte. In: 46 th Congress Sociedade Brasileira de economia, Administração e Sociologia Rural, 2008, Rio Branco: Acre, p. 1-14.
- AROEIRA, C.N.; TORRES FILHO, R.A.; FONTES, P.R.; GOMIDE, L.A.M.; RAMOS, A.L.S.; LADEIRA, M.M.; RAMOS, E.M. Freezing, thawing and aging effects on beef tenderness from *Bos indicus* and *Bos Taurus* cattle. *Meat Science*, v. 116, p. 118-125, 2016.
- ASBIA. Associação Brasileira de Inseminação Artificial, Junho de 2014. Disponível em: <[www.asbia.org.br](http://www.asbia.org.br)>. Acesso em 13 de Junho de 2014.
- ASHIE, I.N.A. SIMPSON B.K., Application of high hydrostatic pressure to control enzyme related fresh seafood texture deterioration. *Food Research International*, v. 29, p. 569–575, 1996.
- AZAMBUJA, R.C.C.; NUNES, M.H.G.; FARIA, A.L.L.; CARDOSO, F.F. Desempenho e rendimentos de carcaça de novilhos de corte de diferentes composições genéticas criados no sul do Brasil. In: Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 8., 2010, Maringá. *Anais...* Maringá, 2010.

AZEREDO, R.B.V.; COLNAGO, L.A.; SOUZA, A.A.; ENGESLBERG, M.; Continuous Wave Free Precession. Pratical analytical Tool for Low-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Measurements. *Analytica Chimica Acta*, v. 478, p. 313-320, 2003.

BAJOVIC, B.; BOLUMAR, T.; HEINZ, V. Quality considerations with high pressure processing of fresh and value added meat products. *Meat Science*, v. 92, n. 3, p. 280-289, 2012.

BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; RODRÍGUEZ, J.J. Update on nonthermal food processing technologies, irradiation and ultrasound. *Food Australia*, Australia, v.54, p.11, 2002.

BARRETT, A. J.; KIRSCHKE, H. Methods in Enzymology, Lorand. Academic Press, New York, USA, v. 80, p. 535, 1981.

BERTRAM, H. C. Field gradiente CPMG applied on postmortem muscles. *Magnetic Resonance Imaging*, v. 22, p. 557-563, 2004.

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*, v. 70, p. 75-81, 2005.

BERTRAM, H. C.; KOHLER, A.; BOCKER, U.; OFSTAD, R.; ANDERSEN, H. J. Heat-induced changes in myofibrillar protein structure and myowater of two pork qualities. A combined FT-IR spectroscopy and low-field NMR relaxometry study. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, p. 1740-1746, 2006.

BERTRAM, H. C.; MORTENSEN, M.; ANDERSEN, H. J.; ENGELSEN, S. B. Effect of freezing temperature, thawing and cooking rate on water distribution in two pork qualities. *Meat Science*, v. 72, p. 34-42, 2006b.

BERTRAM, H. C.; WU, Z.; VAN DEN BERG, F; ANDERSEN, H. J. NMR relaxometry and differential scanning calorimetry during meat cooking. *Meat Science*, v.74, n.4, 684-689, 2006a.

BHAT, Z.F.; MORTON, J. D.; MASON, S.L.; BEKHIT, A.E.A. Role of calpain system in meat tenderness: A review. *Food Science and Human Wellness*, v.7, p. 196-204, 2018.

BOLEMAN, S.J.; BOLEMAN, S.L.; MILLER, R.K.; TAYLOR, J.F.; CROSS, H.R.; WHEELER, T.L.; KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S.D.; MILLER, M.F.; WEST, R.L.; JOHNSON, D.D.; SAVELL, J.W. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. *Journal of Animal Science*, v. 75, n. 6, p. 1521-1524, 1997.

BORJA, C.E.S. Predição da estrutura 3D das proteínas mimetizando o ambiente ribossômico. PUC-RS, 2017. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular), Faculdade de Biociências da Pontifícia universidade católica do Rio Grande do Sul, 2017.

BOUTON, P. E.; FORD, A. L.; HARRIS, P. V.; SHAW, F.D. Effect of low voltage stimulation of beef carcasses on muscle tenderness and pH. *Journal of Food Science*. v. 43, n. 5, 1978.

BOUTON, P. E.; FORD, A. L.; HARRIS, P. V.; SHORTHOSE, W.R.; RATCLIFF, D.; MORGAN, J.H.L. Influence of animal age on the tenderness of beef: muscle differences. *Meat Science*, v. 2, n. 301-311, 1977.

BOUTON, P.E.; HARRIS, P.V.; SHORTHOSE, W.R.; BAXTER, R.I. A comparison of the effects of aging, conditioning and skeletal restraint on the tenderness of mutton. *Journal of Food Science*, v. 38, p. 932-937, 1973.

BOWKER, B.C.; FAHRENHOLZ, T.M.; PAROCZAY, E.W.; SOLOMON, M.B. Influence of Hydrodynamic Pressure Processing and Aging on Tenderness and Muscle Proteins in Beef Strip Loins [abstract]. *Food Technology and Safety.BARC Poster Day*. Paper No. 4. 2006.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for de quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. v. 72, p. 248-254, 1976.

BRESSAN, C.; PRADO, O.V.; PÉREZ, J.R.O.; LEMOS, A.L.S.C.; BONAGURIO, S. Efeito do peso ao abate de cordeiros Santa Inês e Bergamácia sobre as características físico-químicas da carne. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.21, n.3, p.293-303, 2001.

BRESSAN, M.C.; BERAQUET, N.J. Influence of enviromental temperature, transporte distance and resting at the abattoir on post mortem chicken breast meat pH, R value, cooking looses and shear values. In: *Meat Consumption and CulturaIntenational Congress of Meat Science and Technology*. 44 TH, 1998, Barcelona-Spain, 1998.v.2. p. 1080-1081.

BRONDUM, J.; MUNCK, L.; HENCKEL, P.; KARLSSON, A.; TORNBERG, E.; ENGELSEN, S. B. Prediction of water-holding capacity and composition of porcine meat by comparative spectroscopy. *Meat Science*, v.55 n.2, 177-185, 2000.

BROOKS, J.C.; BELEW, J.B.; GRIFFIN, D.B.; GWARTHEY, B.L.; HALE, D.S.; HENNING, W.R.; JOHNSON, D.D.; MORGAN, J.B.; PARRISH JR., F.C.; REAGAN, J.O.; SAVELL, J.W. National beef tenderness survey – 1998. *Journal of Animal Science*, v.78, n.7, p. 1852-1860, 2000.

BUCKOW, R.; TRUONG, B. Q.; VERSTEEG, C. Bovine cathepsin D activity under high pressure. *Food Chemistry*, Oxford, v. 120, n. 2, p. 474-481, 2010.

BYRNE, C.E.; TROY, D.J.; BUCKLEY, D.J. Post mortem changes in muscle electrical properties of bovine M. longissimus dorsi and their relationship to meat quality attributes and pH fall. *Meat Science*, v. 54, n. 1, p. 23-34, 2001.

CABRAL NETO, O.; ROSENTHAL, A.; DELIZA, R.; TORREZAN, R.; FERREIRA, J. C. S.; LEAL JR., W. F.; GASPAR, A. Effects of hydrostatic pressure processing on texture and color of zebu beef. *Food Bioprocess Technol*, v 8, p. 837-843, 2015.

CAMPUS, M. High pressure processing of meat, meat products and seafood. *Food Engineering Reviews*, v. 2, p. 246–273, 2010.

CAPPELLETTI, M.; GIOVANNA FERRENTINO, G.; SPILIMBERGO, S. High pressure carbon dioxide on pork raw meat: Inactivation of mesophilic bacteria and effects on colour properties. *Journal of Food Engineering*, v. 156, p. 55-58, 2015.

CARLEZ, A.; VECIANA-NOGUES, T.; CHEFTEL, J. C. Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, Kidlington, v. 28, n. 5, p. 528-538, 1995.

CARVALHO, M.E.; GASPARIN, G.; POLETI, M.D.; ROSA, A.F.; BALIEIRO, J.C.; LABATE, C.A.; NASSU, R.T.; TULLIO, R.R.; REGITANO, L.C.A.; MOURÃO, G.B.; COUTINHO, L.L. Heat shock and structural proteins associated with meat tenderness in Nellore beef cattle, *Bos indicus* breed. *Meat Science*, v. 96, n. 3, p. 1318-1324, 2014.

CARVALHO, S.R.S.T.; MANÇO, M.C.W. Cor. In: *Métodos de avaliação da qualidade de Carnes*. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2010.

CEZAR, I.M.; QUEIROZ, H.P.; THIAGO, L.R.L.S.; GARAGORRY, F.L.; COSTA, F.P. Sistemas de produção de gado de corte no Brasil: uma descrição com ênfase no regime alimentar e no abate. Campo Grande: EMBRAPA, 2005. (Documentos EMBRAPA Gado de Corte, n. 151).

CHAMBAZ, A.; SCHEEDER, M.R.L.; KREUZER, M.; DUFÉY, P.-A. Meat quality of Angus, Simmental, Charolais and Limousin steers compared at the same intramuscular fat content. *Meat Science*, v. 63, n. 4, p. 491-500, 2003.

CHAPLEAU, N.; LAMBALLERIE, M. Changes in myofibrillar proteins interactions and rheological properties induced by high-pressure processing. *European Food Research and Technology*, v. 216, p. 470–476, 2003.

CHAPLEAU, N.; MANGAVEL, C.; COMPOINT, JEAN-PIERRE; LAMBALLERIE-ANTON, M. Effect of high-pressure processing on myofibrillar protein structure. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 84, n. 1, p. 66–74, 2004.

CHAZE, T.; HOCQUETTE, J.F.; MEUNIER, B.; RENAND, G.; JURIE, C.; CHAMBON, C. Biological markets for meat tenderness of the three main French beef breeds using 2-DE and MS approach. In: Toldrá F., Nollet L. (Eds). *Food Microbiology and Food Safety: Proteomic in Foods*, v.2, Springer, 2013, pp. 127-146.

CHEAH, P. B.; LEDWARD, D. A. High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. *Meat Science*, v. 43, n. 2, p. 123–134, 1996.

CHEFTEL, J. C. Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International*, v. 1, p. 75–90, 1995.

CHEFTEL, J. C.; CULIOLI, J. Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science*, v. 46, n. 3, p. 211–236, 1997.

CHEFTEL, J.C. Review: high-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International*, v.1, p.75-90, 1995.

CHERET, R.; DELBARRE-LADRAT, C.; DE LAMBALLERIE-ANTON, M.; VERREZ-BAGNIS, V. High-pressure effects on the proteolytic enzymes of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fillets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 3969–3973, 2005.

CHERET, R.; DELBARRE-LADRAT, C.; DE LAMBALLERIE-ANTON, M.; VERREZ-BAGNIS, V. Calpain and cathepsin activities in post mortem fish and meat muscles. *Food Chemistry*, v. 101, p. 1474–1479, 2007a.

CHERET, R.; DELBARRE-LADRAT, C.; VERREZ-BAGNIS, V.; DE LAMBALLERIE, M. Effect of high pressure on the calpain-calpastatin system in fish muscle. *Journal Food Science*, v. 72, n. 6, p. 313-316, 2007.

CHERET, R.; HERNANDEZ-ANDRES, A.; DELBARRE-LADRAT, C.; LAMBALLERIE, M.; VERREZ-BAGNIS, V. Proteins and proteolytic activity changes during refrigerated storage in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) muscle after high-pressure treatment. *European Food Research and Technology*, 222(5–6), p. 527–535, 2006.

CHRISTENSEN, M.; LARSEN, L. M.; PURSLOV, P. P. The effect of exogenously added mcalpain on the mechanical properties of single muscle fibres extended to fracture. In *Proceedings 46 th international congress of meat science and technology*, v. 27, p. 460-461, 2000.

CHRISTENSEN, M.; LARSEN, L.M.; PURSLOV, P.P. Effect of proteolytic enzyme activity and heating on the mechanical properties of bovine single muscle fibres. *Meat Science*, v. 66, p. 361-369, 2004.

CORBIN, C.H.; O'QUINN, T.G.; GARMYN, A.J.; LEGAKO, J.F.; HUNT, M.R.; DINH, T.T.N.; RATHMANN, R.J.; BROOKS, J.C.; MILLER, M.F. Sensory evaluation of tender beef strip loin steaks of varying marbling levels and quality treatments. *Meat Science*, v.100, p.24-31, 2015.

CORNFORTH, D.; PEARSON, A.M. Color – its basis and importance. In: *Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products. Advances in Meat Research*, v. 9, Springer, Boston, MA, 1994.

COSGROVE, M.; KIELY, M. The significance of meat in the diet. *Current Nutrition & Food Science*, v. 1, n. 2, p. 151-159, 2005

COSTA, R.F.; TEIXEIRA, B.B.M.; REIS, A.P.; NUNES, M.H.G.; DIONELLO, N.J.L.; CARDOSO, F.F. Influência da composição genética no consumo alimentar residual de novilhos terminados em confinamento no sul do Brasil. In: *SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL*, 9., 2012, João Pessoa. *Anais...* João Pessoa, 2012.

CREIGHTON, T. E. Protein Folding. In: *Protein Engineering*. D. L. Oxender and C. F. Fox, eds. p. 83-90, 1987.

CROUSE, J.D.; CUNDIFF, L.V.; KOCH, R.M.; KOOHMARIAIE, M.; SEIDEMAN S.C. Comparisons of *Bos indicus* and *Bos Taurus* Inheritance for Carcass Beef Characteristics and Meat Palatability. *Journal of Animal Science*, v.67, n. 10, p. 2661-2668, 1989.

CUNDIFF, L.V.; SZABO, F.; GREGORY, K.E. et al. [1993]. Breed comparisons in the germplasm evaluation program at MARC. In: Beef Improvement Federation 25<sup>TH</sup> Anniversary Conference, 1993.

D'ALESSANDRO, A.; ZOLLA, L. We are what we eat: food safety and proteomics. *Journal of Proteome Research*, v. 11, n. 1, p. 26-36, 2012.

DAVEY, C.L.; GILBERT, K.V. Studies in meat tenderness. 7. Changes in the fine structure of meat during aging. *Journal of Food Science*, v.34, p. 69-74, 1969.

DELBARRE-LADRAT, C.; VERREZ-BAGNEIS V.; NOEL, J., FLEURENCE, J. Proteolytic potential in white muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) during post mortem storage on ice: time-dependent changes in the activity of the components of the calpain system. *Food Chemistry*, v. 64, n. 3, p. 441-446, 2004.

DEVINE, C.E.; WAHLGREN, N.M.; TORNBERG, E. Effect of rigor temperature on muscle shortening and tenderisation of restrained and unrestrained beef . *m. longissimus thoracicus et lumborum*. *Meat Science*, v. 51, p. 61-72, 1999.

DOMINGUES, O. O gado nos trópicos. Instituto de Zootecnia, Rio de Janeiro, 1961.

DURANTON, F.; SIMONIN H.; GUYON C.; JUNG S.; DE LAMBALLERIE M. High-pressure processing of meats and seafood. In: Emerging Technologies and Food Processing (ed. D.W. Sun). Elsevier Science, p. 35–63, 2014.

DUTSON, T. R.; SMITH, G. C.; CARPENTER, Z. L. Lysosomal enzyme distribution in electrically stimulated ovine muscle. *Journal Food Science*, v. 45, p. 1097-1098, 1980.

EISENMAYER, M. J.; REYES-DE-CORCUERA, J. High pressure enhancement of enzymes: A review. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 45, n. 5, p. 331–347, 2009.

EL FARO, L. Estudo da curva de lactação de um rebanho da raça Caracu. 1996. 179f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

ELGASIM, E. A.; KENNICK, W. H. Effect of high hydrostatic pressure on meat microstruture. *Food Microstruture*, v. 1, n.1, p.75-82, 1982.

ERTBJERG, P.; MIELCHE, M. M.; LARSEN, L. M.; MOLLER, A. J. Relationship between proteolytic changes and tenderness in prerigor lactic acid marinated beef. *Journal Science Food Agriculture*, v. 79, p. 970-978, 1999.

ETHERINGTON, D. J. Enzymes in the meat industry. *Enzymes in Food Processing*, Glasgow, p. 128-160, 1992.

FARIAS, J.S. Maturação do contrafilé de bovinos nelore sobre as características físicas, biológicas e sensoriais. UFS. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Sergipe, 2016.

FELDHUSEN, F.; WARNATZ, A.; ERDMANN, R.; WENZEL, S. Influence of storage time on parameters of colours stability of beef. *Meat Science*, v. 40, n. 2, p. 235-243, 1995.

FELÍCIO, P.E. Qualidade da carne bovina: características físicas e organolépticas. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999, p. 89-97.

FELÍCIO, P.E.; CORTE, O.O.; PICCHI, V. Rendimento de carcaça e de subprodutos de abate de novilhos das raças Nelore e Pitangueiras de dois grupos etários. In: Anais XI Congresso da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Recife, p.109, 1988.

FERNANDES, H.R.; NETO, O.C.; SÁ FERREIRA, J.C.; DELIZA, R.; ROSENTAHAL, A. Efeito da alta pressão hidrostática nos parâmetros de cor e textura da carne de Caititu (*Tayassu tajacu*). In: Anais XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Gramado, 2016.

FERRARI, A. C. Qualidade da carne de bovinos recriados em pastagens associada a suplementação e terminação a pasto ou no confinamento. UNESP. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Estadual Paulista – Jaboticabal, 2016.

FISCHER, C.; HAMM, R.; HONIKEL, K. O. Changes in solubility and enzymic activity of muscle glycogen phosphorylase in PSE-muscles. *Meat Science*, v. 3, n. 1, p. 11–19, 1979.

FOGUEL, D. Efeito da alta pressão hidrostática e baixas temperaturas em organismos e estruturas fotossintéticas. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Tese (Doutorado). UFRJ, 1993.

FRANCO, D.; MATO, A.; SALGADO, F.J.; LOPEZ-PEDROUSO, M.; CARRERA, M.; BRAVO, S.; PARRADO, M.; GALLARDO, J.M.; ZAPATA, C. Tack-ling proteome changes in the longissimus thoracis bovine muscle in response to pre-slaughter stress. *Journal of proteomics*, v. 122, n. 3, p. 73-85, 2015.

FREITAS, G.S.; RUEDA, P.M.; SOARES, D.R.; VALENTE, T.S. Eficiência reprodutiva: Estratégias de manejo visando maximizar os resultados. Premix, Artigo Técnico, 12.ed., 2013, 5p.

GALAZKA, V. B.; DICKINSON, E.; LEDWARD, D. A. Influence of high pressure processing on protein solution and emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 5, p. 182–187, 2000.

GALAZKA, V. B.; SUMNER, I. G.; LEDWARD, D. A. Changes in protein–protein and protein– polysaccharide interactions induced by high pressure. *Food Chemistry*, v. 57, n. 3, p. 393–398, 1996.

GEESINK, G.H.; KOOHMARAIE, M. Effect of Calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by  $\mu$ - calpain under post mortem conditions. *Journal of Animal Science*, v. 77, p. 26855- 2692, 1999.

GOMES, R.C.; FEIJÓ, G.L.D.; CHIARI, L. Referencial de qualidade de carne bovina fora da porteira. Campo Grande: EMBRAPA, 2017. (Nota Técnica EMBRAPA Gado de Corte).

GOMIDE, L. A. M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. *Tecnologia e tipificação de carcaças*. 2 ed. Viçosa: Ed. da UFV, 2006. 336 p.

GOT, F.; CULIOLI, J.; BERGE, P.; VIGNON, X.; ASTRUC, T.; QUIDEAU, J. M.; LETHIECQ, M. Effects of high-intensity high-frequency ultrasound on aging rate, ultrastructure and some physicochemical properties of beef. *Meat Science*, v. 51, p. 35 -42, 1999.

GOUTEFONGEA, R.; VINCENT RAMPON, N.; NICOLAS, J.P. Dumont. Meat color changes under high pressure treatment. 41. International Congress of Meat Science and Technology, Aug 1995, San Antonio, United States. 1 p., 1995.

GRANT, S.; PATTERSON, M.; LEDWARD, D. Food processing gets freshly squeezed. *Chemistry & Industry*, n.2, p.55-58, 2000.

GROSS, M.; JAENICKE, R. Proteins under pressure. The influence of high hydrostatic pressure on structure, function and assembly of proteins and protein complexes. *European Journal of Biochemistry*, v. 221, p. 617-630, 1994.

GROSSI A., GKARANE V., OTTE J.A., ERTBJERG P., ORLIEN V., High pressure treatment of brine enhanced pork affects endopeptidase activity, protein solubility, and peptide formation. *Food Chemistry.*, v. 134, 1556-1563, 2012.

GUILLEMIN, N.; BONNET, M.; JURIE, C.; PICARD, B. Functional analysis of beef tenderness. *Journal of Proteomics*, v. 75, n. 2, p. 352-365, 2011.

GUNASEKAREN, S. *Nondestructive Food Evaluation: Techniques to Analyses Properties and Quality*, New York, M. Dekker, 2001.

GUNNING, P.; O'NEILL, G.; HARDEMAN, E. Tropomyosin-based regulation of the actin cytoskeleton in time and space. *Physiological Reviews*, v. 88, p. 1-23, 2008.

HALL, L.D.; SHAARANI, S.M.D.; NOTT, K.P. Combination of NMR and MRI quantitation of moisture and structure changes for convection cooking of fresh chicken meat. *Meat Science*, v. 72, p. 34-42, 2006.

HEREMANS, K.; SMELLER, L. Protein structure and dynamics at high pressure. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1386, p. 353-370, 1998.

HEREMANS, K.; SMELLER, L. Review: Protein structure and dynamic at high pressure. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1386, n. 2, p. 353-370, 1997.

HERRING, H.K.; CASSENS, R.G.; BRISKEY, J. Further studies on bovine muscle tenderness as influenced by carcass position, sarcomere length, and fiber diameter. *Journal of Food Science*, v. 30, p. 1049-1054, 1965.

HOMMA, N.; IKEUCHI, Y.; SUZUKI, A. Effects of high pressure treatment on proteolytic system in meat. *Progress in Biotechnology*, v. 13, p. 327-330, 1996.

HOMMA, N.; IKEUCHI, Y.; SUZUKI, A. Effects of high pressure treatment on the proteolytic enzymes in meat. *Meat Science*, v. 38, n. 2, p. 219–228, 1994.

HOMMA, N.; IKEUCHI, Y.; SUZUKI, A. Levels of calpain and calpastatin in meat subjected to high pressure. *Meat Science*, v. 41, n. 3, p. 251-260, 1995.

HONIKEL, K. O. CONVERSION OF MUSCLE TO MEAT | Rigor Mortis, Cold, and Rigor Shortening. *Encyclopedia of Meat Sciences*, v. 1, p. 358–365, 2014.

HONIKEL, K. O. Chemical and physical characteristics of meat| pH measurement. *Elservier. Encyclopedia of Meat Sciences*, V. 1, p. 238-242, 2014.

HONIKEL, K. O.; KIM, C. J.; HAMM, R.; RONCALES, P. Sarcomere shortening of prerigor muscles and its influence on drip loss. *Meat Science*, v. 16, n. 4, p. 267–282, 1986.

HONIKEL, K.O.; FISCHER, C.; HAMM, R. Characteristics and utilization of pre rigor meat. *Annals Technology Agriculture*, v. 9, n. 4, p. 589-602, 1980.

HUFF-LONERGAN, E.; MITSUHASHI, T.; BEEKMAN, D.D.; PARRISH, F.C., JR OLSON, D.G.; ROBSON, R.M. Proteolysis of specific muscle structural proteins by  $\mu$ -calpain at low pH and temperature is similar to degradation in postmortem bovine muscle. *Journal of Animal Science*, v. 74, n. 5, p. 993- 1008, 1996.

HUFF-LONERGAN, E.; ZHANG, W.; LONERGAN, S.M. Biochemistry of postmortem muscle – Lesson on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science*. v.86, p.184-195, 2010.

HUGAS, M.; GARRIGA, M.; MONFORT, J. M. New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. *Meat Science*, v. 62, n. 3, p. 359-371, 2002.

HUGHES, B. H. Effects of High Pressure Processing on the Quality of Farm-Raised Abalone (*Haliotis rufescens*). Dissertation. In: University of Maine, 2014.

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

HWANG, H.I.; PARK, B.Y.; CHO, S.H.; LEE, J.M. Effects of muscle shortening and proteolysis on warner-bratzler shear force in beef Longissimus and Semitendinosus. *Meat Science*, v. 68, p. 497-505, 2004.

IKEUCHI, Y.; SUZUKI, A.; OOTA, T.; HAGIWARA, K.; TATSUMI, R.; ITO, T.; BALNY, C. Fluorescence study of the high pressure-induced denaturation of skeletal muscle actin. *Europe Journal of Biochemistry*, v. 269, n. 1, p. 364-371, 2002.

IKEUCHI, Y.; YOSHIOKA, K.; SUZUKI, A. Recent advanced topics on application of high pressure technology to meat processing. *The Review of High Pressure Science and Technology*, v. 16, n. 1, p. 17-25, 2006.

ISHIHARA, Y.; MOREIRA, R.; SOUZA, G.; SALVIANO, A.; MADRUGA, M. Study of the Warner-Bratzler Shear Force, Sensory Analysis and Sarcomere Length as Indicators of the Tenderness of Sun-Dried Beef. *Molecules*, v. 18, p. 9432-9440, 2013.

IWANOWSKA, A.; IWANSKA, E.; GRZÉS, B.; MIKOŁAJCZAK, B.; POSPIECH, E.; ROSOCHACKI, S.; JUSZCZUK-KUBIAK, E.; LYCZYNSKI, A. Changes in proteins and tenderness of meat from Young bulls of four breeds at three ages over 10 days of cold storage. *Animal Science Papers and Reports*, v.28, p. 13-25, 2010.

IWASAKI, T.; NOSHIROYA, K.; SAITO, N.; OKANO, K.; YAMAMOTO, K. Studies of the effect of hydrostatic pressure pretreatment on thermal gelation of chicken myofibrils and pork meat patty. *Food Chemistry*, v. 95, n. 3, p. 474–483, 2006.

IWASAKI, T.; YAMAMOTO, K. Structural changes in chicken myosin subfragment-1 induced by high hydrostatic pressure. *Progress in Biotechnology*, v. 19, p. 111–116, 2002.

JANDT, K. D. Developments and perspectives of scanning probe microscopy (SPM) on organic materials. *Materials Science and Engineering R.: Reports*, Lausanne, v. 21, p. 221-295, 1998.

JIA, X.; VEISETH-KENT, E.; GROVE, H.; KUZIORA, P.; AASS, L.; HILDRUM, K.I.; HOLLUNG, K. Peroxiredoxin-6-a potential protein marker for meat tenderness in bovine longissimus thoracis muscle. *Journal of Animal Science*, v. 87, n. 7, p. 2391-2399, 2009.

JIMÉNEZ-COLMENERO, F.; COFRADES, S.; CARBALLO, J.; FERNÁNDEZ, P.; FERNÁNDEZ-MARTIN, F. Heating of chicken and pork meat batters under pressure conditions: protein interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, n. 11, p. 4706-4711, 1998.

JIN, Y.; NAN, Q.; CHE, R. Effects of high pressure on the activity of major enzymes in beef. *Meat Research (China)* v. 3, p. 13–16, 2001.

JOHN, L.; CORNFORT, D.; CARPENTER, C.E.; SORHEIM, O. PETTEE, C.B.; WHITTIER, D.R. Color and thiobarbituric acid values of cooked top sirloin steaks packaged in modified atmospheres of 80% oxygen, or 0,4% carbon monoxide or vacum. *Meat Science*, v. 69, n. 3, p. 441-449, 2005.

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

JUNG, S.; DE LAMBALLERIE-ANTON, M.; GHOUL, M. Modifications of ultrastructure and myofibrillar proteins of post-rigor beef treated by high pressure. *LebensmittelWissenschaft und-Technologie*, v. 33, n. 4, p. 313–319, 2000.

JUNG, S.; GHOUL, M.; LAMBLLERIE-ANTON, M. Change in lysosomal enzyme activities and shear values of high pressure treated meat during ageing. *Meat Science*, Oxford, v. 56, n. 3, p. 239-246, 2000a.

JUNG, S.; GHOUL, M.; LAMBLLERIE-ANTON, M. Modifications of ultrastructure and myofibrillar proteins of post-rigor beef treated by high pressure. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, Kidlington, v. 33, n. 4, p. 313-319, 2000b.

JUNG, S.; LAMBLERIE-ANTON, M.; TAYLOR, R. G. High-pressure effects on lysosome integrity and lysosomal enzyme activity in bovine muscle. American Chemical Society, v. 48, n. 6, p. 2467-2471, 2000.

JUNIOR, B. R. C. L.; TRISBUST, A. A. L.; CRISTIANINI, M. Effect of high-pressure Technologies on enzymes applied in food processing. In: Enzyme Inhibitors and Activators. Dr. Murat Senturk (Ed.), In Tech, 2017.

KANDA, T.; PEARSON, A.M., MERKEL, R.A. Influence of pH and temperature upon calcium accumulation and release by bovine sarcoplasmatic reticulum. Food Chemistry, v.2, n. 4, p. 253-266, 1977.

KARP, G. (2011). Biología celular y molecular: conceptos y experimentos. (6 ed.). Mexico: Mc Graw Hill.

KENNICK, W. H.; ELGASIM, E. A.; HOLMES, Z. A.; MEYER, F. P. The effect of pressurisation of pre-rigor muscle on post-rigour characteristics. Meat Science, v. 4, n.1, p. 33–40, 1980.

KIM, I. J.; LEE, E. J.; LEE, N. H.; KIM, Y. H.; YAMAMOTO, K. Effects of hydrostatic pressure treatment on the physicochemical, morphological, and textural properties of bovine Semitendinosus muscle. Food Science and Biotechnology, v.16, n.1, p. 49–54, 2007.

KIM, K.; HOMMA, N.; IKEUCHI, Y.; SUZUKI, A. Effect of High Hydrostatic Pressure on the Conversion of  $\alpha$ -Connectin to  $\beta$ -Connectin. Journal of Biochemistry, v. 114, n. 4, p. 463-467, 1993.

KITAMURA, S.; MUROYA, S.; TANABE, S.; OKUMURA, T.; CHIKUNI, K.; NISHIMURA, T. Mechanism of production of troponin T fragments during postmortem aging of porcine muscle. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53, n. 10, p. 4178-4181, 2005.

KNAPP, R. H.; TERRY, C. A.; SAVELL, J. W.; CROSS, H. R.; MIES, W. L.; EDWARDS, J. W. Characterization of Cattle Types to Meet Specific Beef Targets. Journal of Animal Science, v. 67, n. 9, p. 2294–2308, 1989.

KO, W. C.; HSU, K.C. Effect of high-pressure storage on the processing quality of tilapia meat. Progress in Biotechnology, v. 19, p. 411-416, 2002.

KOLCZACK, T.; POSPIECH, E.; PALKA, K.; CKI, J.L. Changes in structure of psoas major and minor and semitendinosus muscles of calves, heifers and cows during post-mortem ageing. Meat Science. v.64, n.1, p.77-83, 2003.

KOOHMARAIE, M. Myofibril Fragmentation Index. <http://meats.marc.usda.gov> [03/06/2015]

KOOHMARAIE, M. The role of Ca+2-dependent proteases (calpains) in post mortem proteolysis and meat tenderness. Biochimie, v. 74, n. 3, p. 239–245, 1992.

KOOHMARAIE, M.; BABIKER, A. S.; SCHROEDER, A. L.; MERKEL, R. A.; DUTSON, T. R. Acceleration of postmortem tenderisation in ovine carcasses through activation of Ca<sup>2+</sup>-dependent proteases. *Journal Food Science*, v. 53, p. 1638-1641, 1988.

KOOHMARAIE, M.; DOUMIT, M.E.; WHEELER, T.L. Meat toughening does not occur when rigor shortening is prevented. *Journal of Animal Science*, v. 74, n. 12, p. 2935-2942, 1996.

KUBO, T.; GERELET, B.; HAN, G. D.; SUGIYAMA, T.; NISHIUMI, T.; SUZUKI, A. Changes in immunoelectron microscopic localization of cathepsin D in muscle induced by conditioning or high-pressure treatment. *Meat Sience*, v. 61, n. 4, p. 415-418, 2002.

KUBOTA, E.H.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Maturação da carne um processo enzimático. *Revista Nacional da Carne*, São Paulo, v. 10, n. 200, p. 375-378, 1993.

LAAKKONEN, E.; SHERBON, J. W.; WELLINGTON, G. H. Low-temperature, long-time heating of bovine muscle: 2. Changes in electrophoretic patterns. *Journal of Food Science*, v. 35, p. 178-180, 1970.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature*, v. 227, n. 15, p. 680-685, 1970.

LAGE, J.F.; OLIVEIRA, I.M.; PAULINO, P.V.R.; RIBEIRO, F. Papel ndo Sistema calpaína-calpastatina sobre a proteólise muscular e sua relação com a maciez da carne em bovinos de corte. *Revista Electrónica de Veterinária*, v.10, n. 12, p. 1-19, 2009.

LAKSHMANAN, R.; PATTERSON M. F.; PIGGOTT, J. R. Effects of high-pressure processing on proteolytic enzymes and proteins in cold-smoked salmon during refrigerated storage. *Food Chemistry*, v. 90, p. 541-548, 2005.

L-AMETSCH, R.; ROEPSTORFF, P.; MOLLER, H.S.; BENDIXEN, E. Identification of , p. myofibrillar substrates for  $\mu$ -calpain. *Meat Science*, v. 68, n. 4, p. 515-521, 2004.

LAN, X.; LIAO, D.; WU, S.; WANG, F.; SUN, J.; TONG, Z. Rapid purification and characterization of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from lizard fish protein hydrolysates with magnetic affinity separation. *Food chemistry*, v. 182, p. 136-142, 2015.

LANA, A.; ZOLLA, L. Proteolysis in meat tenderization from the point of view of each single protein: A proteomic perspective. *Journal of Proteomics*. v.147, p.85-97, 2016.

LANCIOTTI, R.; CHAVES-LÓPEZ, C.; PATRIGNANI F, APAPARELLA, M. E.; SERIO, A.; SUZZI, G. Effects of milk treatment with dynamic high pressure on microbial populations and lipolytic and proteolytic profiles of Crescenza cheese. *International Journal of Dairy Technology*, v. 57, n.1, p. 19-25, 2004.

LAVILLE, E.; SAYD, T.; MORZEL, M.; BLINET, S.; CHAMBON, C.; LEPESTIT, J.; RENAND, G.; HOCQUETTE, J.F. Proteome changes during meat aging in tough and tender beef suggest the importance of apoptosis and protein solubility for beef aging and tenderization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, n. 22, p. 10755-10764, 2009.

LAWRIE, R.A. Ciência da carne. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 384 p.

LAWRIE, R.A. Meat Science. 4.ed. Oxford: Pergamon Press, 1985, 267p.

LAWRIE, R.A.; LEDWARD, D.A. 2006. Lawrie's meat science. 17th ed. Cambridge, England: Woodhead Publishing Ltd.

LEE, E. -J.; KIM, Y. -J.; LEE, N. -H.; HONG, S. -I.; YAMAMOTO, K. Differences in properties of myofibrillar proteins from bovine semitendinosus muscle after hydrostatic pressure or heat treatment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 87, n.1, p. 40–46, 2007.

LEE, J. R.; BAIANU, I. C.; BECHTEL, P. J. Hydration behavior of heart muscle studied by nuclear magnetic relaxation. Changes with heat treatment in muscle hydration and water distribution in heart muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.40, n.12, p.2350-2355, 1992.

LEME , P.R. ; BOIN , C. ; MARGARIDO , R.C.C. ; TEDESCHI , L.O. ; HAUSKNECHT , J.C.O.F.V. ; ALLEONI , G.F. ; LUCHIARI FILHO, A. Desempenho em confinamento e características de carcaca de bovinos machos de diferentes cruzamentos abatidos em três faixas de peso growth performance in feedlot and carcass characteristics of beef cattle from several crossbreds slaughtered in three body weight ranges. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.6, p.2347-2353 2000.

LI, Y.; LANG, P.; LINKE, W. A. Titin stiffness modifies the force-generating region of the muscle sarcomeres. *Nature: Scientific Reports*, disponível em: <http://www.nature.com/articles/srep24492>, 2016.

LIMA, M.L.P.; BONILHA NETO, L.M.; FIGUEIREDO, L.A.; RAZOOK, A.G. Os bovinos da raça Caracu. *Zootecnia*, v.30, p.1-12, 1992.

LOCKER, R.H.; HAGYARD, C.J. A cold shortening effect in beef muscles. *Journal science of food and Agriculture*, v. 14, p. 787-793, 1963.

LODISH, H.; BERK, A.; MATSUIDARA, P.; KAISER, C. A.; KRIEGER, M.; SCOTT, M. P.; ... DARNELL, J. (2005). Biología Celular y Molecular (5 ed.). Argentina: Editorial Médica Panamericana.

LONGO, V.; LANA, A.; BOTTERO, M.T.; ZOLLA, L. Apoptosis in muscle-to-meat aging process: the omic witness. *Journal of Proteomics*, v. 125, n. 1, p. 29-40, 2015.

LOPES, L.S.F. Análise multivariada de características de qualidade de carcaça e da carne de bovinos angus-nelore terminados em confinamento. 2019. 46f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2019.

LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; CARBALLO, J.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Microbial inactivation in meat products by pressure/ temperature processing. *Journal of Food Protection*, v.62, n. 12, p.1411-1415, 1999.

LOWDER, A.C.; WAITE-CUSIC, J.G.; DEWITT, C.A.M. High pressure-low temperature processing of beef: Effects on survival of internalized *E. coli* O157:H7 and quality characteristics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 26, p. 18-25, 2014.

MA H.J.; LEDWARD D.A. High pressure processing of fresh meat--is it worth it? *Meat Science*, v. 95, p. 897–903, 2013.

MA, H. J; ZHOU, G.; LEDWARD, D. A.; YU, X.; PAN, R. Effect of combined high pressure and thermal treatment on myofibrillar proteins solubilization of beef muscle. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 12, n. 5, p. 3034–3041, 2011.

MA, H.J.; LEDWARD, D.A. High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. *Meat Science*, v. 68, n. 3, p. 347-355, 2004.

MACFARLANE, J. J. (1985). High pressure technology and meat quality. In R. A. Lawrie (Ed.), *Developments in meat science-3* (pp. 155–184). London: Elsevier Applied Science.

MACFARLANE, J. J. Pre-rigor pressurization of muscle: Effects on pH, shear value and taste panel assessment. *Journal of Food Science*, v. 38, n.2, p. 294–298, 1973.

MACFARLANE, J. J.; MCKENZIE, I. J.; TURNER, R. H. Pressure-heat treatment of meat: Changes in myofibrillar proteins and ultrastructure. *Meat Science*, v. 17, p. 161–176, 1986.

MACFARLANE, J. J.; MORTON, D. J. *Meat Science*, v. 2, p. 281, 1978.

MACH, N.; BACH, A.; VELARDE, A.; DEVANT, M. Association between animal, transportation, slaughterhouse practices, and meat pH in beef. *Meat Science*, v. 78, p. 232-238, 2008.

MALINOWSKA-PAŃCZYK, E.; KOŁODZIEJSKA, I. Changes in Enzymatic Activity of Fish and Slaughter Animals Meat after High Pressure Treatment at Subzero Temperatures. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, v. 68, n. 2, p. 125-131, 2018.

MARCOS, B.; AYMERICH, T.; GARRIGA, M. Evaluation of high pressure processing as an additional hurdle to control *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in low-acid fermented sausages. *Journal of Food Science*, v. 70, n. 7, p. 339–344, 2005.

MARCOS, B.; KERRY, J. P.; MULLEN, A.M. High pressure induced changes on sarcoplasmic protein fraction and quality indicators. *Meat Science*, v. 85, n. 1, p. 115–120, 2010.

MARCOS, B.; MULLEN, A.M. High pressure induced changes in beef muscle proteome: Correlation with quality parameters. *Meat Science*, v. 97, p. 11-20, 2014.

MARINO, R. ALBENZIO, M., DELLA MALVA, A.; CAROPRESE, M.; SANTILLO, A.; SEVI, A. Changes in meat quality traits and sarcoplasmic proteins during aging in three different cattle breeds. *Meat Science*. v.98, n. 2, p. 178-186, 2014.

MARINO, R. ALBENZIO, M., DELLA MALVA, A.; SANTILLO, A.; LOIZZO, P.; SEVI, A. Proteolytic pattern of myofibrillar protein and meat tenderness as affected by breed and aging time. *Meat Science*. v.95, n. 2, p.281-287, 2013.

MARSH, B.B.; LOCHNER, J.V.; TAKAHASHI, G.; KRAGNESS, D.D. Effects of early post mortem pH and temperature on beef tenderness. *Meat Science*, v. 5, n. 6, p. 479-483, 1981.

MARSH, B.B.; RINGKOB, T.P.; RUSSELL, R.L.; SWARTZ, D.R.; PAGEL, L.A. Effects of early post mortem glycolytic rate on beef tenderness. *Meat Science*, v. 21, n. 4, p. 241–248, 1987.

MARSHALL, D. M. Breed differences and genetic parameters for body composition traits in beef cattle. *Journal of Animal Science*, v. 72, n. 10, p. 2745–2755, 1994.

MARTINEZ, C.; ROS, G.; PERIAGO, M.J. Biodisponibilidad del hierro de los alimentos. *Archivos Lattino Americanos de Nutrición*, v.49, n.2, p. 106-113, 1999.

MARTINS, C.A. Efeito do pH final sobre a qualidade da carne de bovinos da raça Nelore. ULisboa, 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Zootécnica – Produção Animal), Universidade de Lisboa, 2017.

MCARDLE, R.; MARCO, B.; KERRY, J. P.; MULLEN, A. Monitoring the effects of high pressure processing and temperature on selected beef quality attributes. *Meat Science*, v. 86, n. 3, p. 629-634, 2010.

MCARDLE, R.A.; MARCOS, B.; MULLEN, A.M.; KERRY, J.P. Influence of HPP conditions on selected lamb quality attributes and their stability during chilled storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 19., p. 66-72, 2013.

MCARTHUR, A. J.; WILDING, P. (1996). The effect of high pressure on skeletal muscle myofibrils and myosin. In R. Hayashi, & C. Balny (Eds.), *High pressure bioscience and biotechnology* (pp. 323–326). Amsterdam: Elsevier Science B.V.

MEYER, R.S.; COOPER, K.L.; KNORR, D.; LELIEVELD, H.L.M. High pressure sterilization of foods. *Food Technology*, v. 54, n. 11, p.67-72, 2000.

MICKLANDER, E.; PESHLOV, B.; PURSLOW, P. P.; ENGELSEN, S. B. NMR-cooking: monitoring the changes in meat during cooking by low-field <sup>1</sup>H-NMR. *Trends in Food Science & Technology*, v.13, n.9–10, p. 341-346, 2002.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Bovinos e Bubalinos, 2019. Disponível no site [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). Acessado em 03 de Junho de 2019.

MOELLER, P.W.; FIELDS, P.A.; DUTSON, T.R.; LANDMANN, W.A.; CARPENTER, Z. L. Effect of high temperature conditioning on subcellular distribution and levels of lysosomal enzymes. *Journal of Food Science*, v. 41, p. 216-217, 1976.

MONIN, G.; LABORDE, D. Water holding capacity of pig muscle proteins: Interaction between the myofibrillar proteins and sarcoplasmic compounds. *Sciences des Aliments*, v. 5, p. 353-341,1985.

MONTERO, P.; GO'MEZ-GUILLEN, C. High pressure applications on miosystems. Symposium on Emerging Technologies for the Food Industry, v. 29, p. 11–13, Madrid, Spain, 2002.

MORALES, D.C.; CHARDULO, L.A.L.; SILVEIRA, A.C.; OLIVEIRA, H.N.; ARRIGONI, M.B.; MARTINS, C.L.; CERVIERI, R.C. Avaliação da qualidade da carne de bovinos de diferentes grupos genéticos. *Acta Scientiarum animal sciences*, v. 25, n. 1, p. 171-175, 2003.

MUCHENJE, V.; DZAMA, K.; CHIMONYO, M.; SRYDOM, P.E.; HUGO, A.; RAATS, J.G. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. *Food Chemistry*, v. 112, p. 279-289, 2009.

MULLEN, A.M. Understanding meat quality through the application of genomic and proteomic approaches. *Meat Science*, v.74, p.3-16, 2006.

MÜLLER, L. Normas para avaliação de carcaças e concurso de carcaças de novilhos. Santa Maria: UFSM, n. 1. 1980. 31p.

MUROYA, S.; KITAMURA, S.; TANABE, S.; NISHIMURA, T.; NAKAJIMA, I.; CHIKUNI, K. N-terminal amino acid sequences of troponin T fragments, including 30 kDa one, produced during postmortem aging of bovine longissimus muscle. *Meat Science*, v. 67, p. 19-24, 2004.

MUSSA, D. M. (1999) High pressure processing of milk and muscle foods: evaluation of process kinetics, safety and quality changes. Thesis, McGill University, Canada, 264pp.

NEATH, K.E.; DEL BARRIO, A.N.; LAPITAN, R.M. et al. Difference in tenderness and pH decline between water buffalo meat and beef during post mortem aging. *Meat Science*, v.75, p.499-505, 2007.

NEGISH, H.; YAMAMOTO, E.; KUTAWA, T. The origin of the 30 kDa component appearing during post-mortem ageing of bovine muscle. *Meat Science*, v. 42, p. 289-303, 1996.

NICOLAU, C.V.J.; SILVA, R.G.; MOTA, L.S.L.S. Características de pele e do pelame em bovinos da raça Caracu. *Archivos de Zootecnia*, v. 53, n. 201, p. 25-34, 2004.

NISHIUMI, T. Science and technology of high-pressure processing for improving meat texture. *The Review of High Pressure Science and Technology*, v. 27, n.1, p. 49-59, 2017.

NUNES, M.H.G.; AZAMBUJA, R.C.C.; SEVERO, L.K.; RODRIGUES, P.F.; CARDOSO, F.F. Peso, medidas e relação dos cortes da carcaça de novilhos de corte de diferentes genótipos criados no sul do Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 8., 2010, Maringá. *Anais...* Maringá, 2010.

OFFER, G.; TRINICK, J. On the mechanism of water holding in meat: The swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Science*, v. 8, n. 4, p. 245-281, 1983.

OHLENDIECK, K. Proteomics of skeletal muscle glycolysis, *Biochim. Biophys. Acta* (1804) p. 2089–2101, 2010.

OHMORI, T.; SHIGEHISA, T.; TAJI, S.; HAYASHI, Agricultural and Biological Chemistry. 55:357. 1991.

OHMORI, T.; SHIGEHISA, T.; TAJI, S.; HAYASHI, R. Bioscience and Biotechnology Biochemical. 56:1285. 1992.

OHSUMI, Y.; ISHIKAWA, T.; KATO, K. A rapid and simplified method for the preparation of lysosomal membranes from rat livers. Journal. Biochemical, v. 93, p. 547-556, 1983.

OKAMOTO, A.; SUZUKI, A. Effects of high hydrostatic pressure thawing on pork meat. Progress in Biotechnology, v. 19, p. 571-576, 2002.

OLIVO, R.; OLIVO, SHIMOKOMARI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N.N.; FRANCO, B.D.G.M. Oxidative changes in meat products. In: eds. News in Meat Science and Technology. Varela, São Paulo, SP, Brasil, p. 155-163, 2006.

ORDÓÑEZ, J.A.; RODRÍGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F.; SANZ, M.L.G.; MINGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALES, L.; CORTECERO, M.D.S. Alimentos de Origem Animal. Porto Alegre-RS: Artmed. v.2, p. 279, 2005.

OUALI, A. Meat tenderization: possible causes and mechanism. A review. Journal of Muscle Foods, v. 1, p. 129-165, 1990.

PALMIERI, L.C. Estudo do enovelamento e agregação do monômero da proteína amiloidogênica transtirretina (M-TTR). UFRJ, 2005. Dissertação (Mestrado em Química Biológica), Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne. 2 ed: Goiânia: GEGRAF-Universidade Federal de Goiás, v. 1, 2001.

PATRIZIA, C.; GIOVANNI, B. S. Tryptophan phosphorescence and pressure effects on protein structure. In: Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Protein Structure and Molecular Enzymology, v. 1595, p. 116-130, 2002.

PATTERSON, M. F.; LEDWARD, D. A.; ROGERS, N. (2005). High pressure processing. In J. G. Brennan (Ed.), Food processing handbook (pp. 173-195). Weinheim: Wiley-VCH.

PEARSON, A. M.; DUTSON, T.R. Advances in Meat Research: Eletrical stimulation, v. 1 Connecticut: AVI Publishing Company, p. 1-40, 1995.

PEREIRA, A.S.C. Características qualitativas da carcaça e da carne das progêneres de touros representativos da raça Nelore (*Bos Indicus*) e diferentes grupos genéticos. 2006. 115f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2006.

PEREIRA, F. M. V.; BERTELLI PFLANZER, S.; GOMIG, T.; LUGNANI GOMES, C.; DE FELÍCIO, P. E.; COLNAGO, L.A. Fast determination of beef quality parameters with time-domain nuclear magnetic resonance spectroscopy and chemometrics. Talanta, v.108, p.88-91, 2013.

PEREIRA, M.C.; MERCADANTE, M.E.; ALBUQUERQUE, L.G.; RAZOOK, A.G.; FIGUEIREDO, L.A. Estimativas de parâmetros genéticos de características de crescimento em um rebanho Caracu selecionado para peso ao sobreano. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, n. 4, p. 1669-1676, 2006.

PFLANZER, S.B.; FELÍCIO, P.E. Effects of teeth maturity and fatness of Nellore (*Bos indicus*) steer carcasses on instrumental and sensory tenderness. *Meat Science*, v. 83, p. 697-701, 2009.

PFLANZER, S.B.; FELÍCIO, P.E. Moisture and fat content, marbling level and color of boneless rib cut from Nellore steers varying in maturity and fatness. *Meat Science*, v. 87, p. 7-11, 2011.

PICOUET, P.; SALA, X.; GARCIA-GIL, N.; NOLIS, P.; COLLEO, M.; PARELLA, T.; ARNAU, J. High pressure processing of dry-cured ham: Ultrastructural and molecular changes affecting sodium and water dynamics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 16, p. 335-340, 2012.

PINHEIRO, R. S. B. ; SILVA SOBRINHO, A. G. ; SOUZA, H. B. A. ; YAMAMOTO, S. M. ; POLIZEL NETO, A. Capacidade de retenção de água e das perdas de água por cocção da carne de ovinos de diferentes categorias. In: IX Congresso Internacional de Zootecnia, XVII Congresso Brasileiro de Zootecnia Zootec, 2007, Londrina. A Zootecnia frente a novos desafios. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2007.

POSO, A. R.; PUOLANNE, E. Carbohydrate metabolism in meat animals - a review. *Meat Science*, v. 70, p. 423-434, 2005.

PRATES, J.M.M. Maturação da carne dos mamíferos: Caracterização geral e modificações físicas. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 15, n. 533, p. 34-41, 2000.

PURCHAS, R. W. An assessment of the role of pH differences in determining the relative tenderness of meat from bulls and steers. *Meat Science*, v. 27, p. 129-140, 1990.

PURCHAS, R. W. Some experiences with dark-cutting beef in New Zealand. In: (Ed. S. U. Fabiansson, W. R. Shorthose and R. D. Warner) Dark-cutting in cattle and sheep. Proc. Aust. Workshop p. 42. Aust. Meat Lives. Res. Develop. Corp., Sydney South, NSW (1988).

PURCHAS, R. W.; AUNGSUPAKORN, R. Further investigations into the relationship between ultimate pH and tenderness for beef samples from bulls and steers. *Meat Science*, v. 34, p. 163-178, 1993.

PURCHAS, R.W. A comparison of the nutrient content of uncooked and cooked lean from New Zealand beef and lamb. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 35, p. 75-82, 2014.

PURCHAS, R.W.; BURNHAM, D.L.; MORRIS, S.T. Effects of growth potential and growth path on tenderness of beef longissimus muscle from bulls and steers. *Journal of Animal Science*, v. 80, p. 3211-3221, 2002.

QIAO, M.; FLETCHER, D.L.; SMITH, D.P.; NORTHCUTT, J.K. The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. *Poultry Science Association*, v. 80, n. 5, p. 676-680, 2001.

QUALI, A. Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. *Biochemich*, v. 74, n. 3, p. 251-265, 1992.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. Avaliação da Qualidade de Carnes - Fundamentos e Metodologias. 1. ed. Viçosa: Ed UFV, 2009. 599 p.

REALINI, C. E.; GUÀRDIA, M.D.; GARRIGA, M.; PÉREZ-JUAN, M.; ARNAU, J. High pressure and freezing temperature effect on quality and microbial inactivation of cured pork carpaccio. *Meat Science*, v. 88, n. 3, p. 542-547, 2011.

RENERRE, M. Review: factors involved in the discolouration of beef meat. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 25, p. 613-630, 1990.

RENERRE, M.; LABAS, R. Biochemical factors influencing metmyoglobin formation in beef muscles. *Meat Science*, v. 19, n.2, p. 151-165, 1987.

RENOU, J. P.; KOPP, J.; GATELLIER, P.; MONIN, G.; KOZAK-REISS, G. NMR relaxation of water protons in normal and malignant hyperthermia-susceptible pig muscle. *Meat Science*, v.26, n.2, p.101-114, 1989.

RENOU, J. P.; KOPP, J.; VALIN, C. Use of low resolution NMR for determining fat content in meat products. *International Journal of Food Science & Technology*, v. 20, n. 1, p. 23-29, 1985. ISSN 1365-2621.

RIBEIRO, E.L.A.; HERNANDES, J.A.; ZANELLA, E.L.; MIZUBUTI, I.Y.; SILVA, L.D.F.; REEVES, J.J. Desempenho e características de carcacça de bovinos de diferentes grupos genéticos. *Revista Brasileira de Zootenia*, v. 37, n. 9, p. 1669-1673, 2008.

ROÇA, R.O. *Tecnologia da carne e produtos derivados*. Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, 2000. 202p

RODE, T. M.; HOVDA, M. B. High pressure processing extend the shelf life of fresh salmon, cod and mackerel. *Food Control*, v. 70, p. 242-248, 2016.

ROWER, L.J.; MADDOCK, K.R.; LONERGAN, S.M.; HUFF-LONERGAN, E. Influence on early post-mortem protein oxidation on beef quality. *Journal of Animal Science*, v. 82, p. 785-793, 2004.

RUBENSAM, J.M.; FELÍCIO, P.E.; TERMIGNONI, C. Influência do genótipo *Bos indicus* na atividade da calpastatina e na textura da carne de novilhos abatidos no Sul do Brasil. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n.4, p. 405-409, 1998.

SÁ, E. M. F. A Influência da Água nas Propriedades da Carne- Parte II. *Revista Nacional da Carne*. Ed. Dipemar, n. 325, 2004.

SANTOS, P. M.; CORRÊA, C. C.; FORATO, L. A.; TULLIO, R. R.; CRUZ, G. M.; COLNAGO, L. A. A fast and non-destructive method to discriminate beef samples using TD-NMR. *Food Control*, v.38, p.204-208, 2014.

SARGIANOS, N.; GAITANAKI, C.; DIMITRIADIS, B.; BEIS, I. Proteolitic degradation of isolated myofibrils and myofibrillar proteins by m- calpain from the skeletal muscle of the amphibian *Rana ridibunda*. *Journal of Experimental Zoology*, v. 276, p. 30-42, 1996.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT user's guide. Versão 9.1.3. Cary: 2004.

SCELLINI, B.; PIRODDI, N.; FLINT, G.V.; REGNIER, M.; POGGESI, C.; TESI, C. Impacto f tropomyosin isoform composition on fast skeletal muscle thin filamento regulation and force development. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, v. 36, p. 11-23, 2015.

SCHEIBENZUBER, M.; RUB, W.; GORG, A.; MEYER-PIT TROFF, R. Scanning elétron microscopic study of high pressure induced microstructural changes of proteins in turkey and pork meat. *High Pressure Bioscience and Biotechnology*, v. 19, p. 545-550, 2002.

SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M.; MILLER, M. F.; CROUSE, J. D.; REAGAN, J. O. An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. *Journal of Animal Science*, v. 69, n. 1, p. 171, 1991.

SIKES, A. L.; TOBIN, A.B.; TUME, R. K. Use of high pressure to reduce cook loss and improve texture of low-salt beef sausage batters. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 10, n. 4, p. 405–412, 2009.

SIKES, A.; TORMBERG, E.; TUME, R. A proposed mechanism of tenderising post-rigor beef using high pressure–heat treatment. *Meat Science*, v. 84, n. 3, p. 390-399, 2010.

SILVA, C.B.S. Processamento de sinais de ressonância magnética nuclear usando classificador neural para reconhecimento de carne bovina. USP, 2007. Dissertação (Mestrado em engenharia Elétrica), 88 p., Universidade de São Paulo de São Carlos, 2007.

SILVA, J. A.; PATARATA, L.; MARTINS, C. Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. *Meat Science*, v. 52, n. 4, p. 453-459, 1999.

SILVA, J.L.; WEBER, G. Pressure stability of proteins. *Annual Review of Physical Chemistry*. v. 44, n. 1, p. 89-113, 1993.

SILVA, R.G.; PRADO, I.N.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N.E. Dietary effects on muscle fatty acid composition of finished heifers. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, n.1, p.95-101, jan. 2002.

SLONGO, A.P. Determinação da Vida de Prateleira e Análise Sensorial de Presunto Suíno Submetido ao Tratamento de Alta Pressão Hidrostática. Tese (doutorado), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2008.

SMULDERS, F.J.M.; MARSH, B.B.; SWARTZ, D.R.; RUSSEL, R.L.; HOENECKE, M.E. Beef tenderness and sarcomere length. *Meat Science*, v. 28, p. 349-363, 1990.

SOLOMON, M.B.; LIU, M.; PATEL, J.R.; BOWKER, A.C.; SHARMA, M. Processo de Pressão hidrodinâmico para Melhorar Qualidade de Carne e Segurança. In: Nollet, L.M.L., Toldra, F., editores. *Tecnologias avançadas para Processo de Carne*. Boca Raton, FL.; CRC Press, Taylor & Francis Grupo. p. 219-244, 2006.

SORLAND, G. H.; LARSEN, P. M.; LUNDBY, F.; RUDI, A.-P.; GUIHENEF, T. Determination of total fat and moisture content in meat using low field NMR. *Meat Science*, v.66, n.3, p.543-550, 2004.

STOLOWSKI, G.D.; BAIRD, B.E.; MILLER, R.K.; SAVELL, J.W.; SAMS, A.R.; TAYLOR, J.F.; SANDERS, J.O.; SMITH, S.B. Factors influencing the variation in tenderness of seven major beef muscles from three Angus and Brahman breed crosses. *Meat Science*, v. 73, p. 475-483, 2006.

STRAADT, I. K.; RASMUSSEN, M.; ANDERSEN, H. J.; BERTRAM, H. C. Aging-induced changes in microstructure and water distribution in fresh and cooked pork in relation to water-holding capacity and cooking loss – A combined confocal laser scanning microscopy (CLSM) and low-field nuclear magnetic resonance relaxation study. *Meat Science*, v.75, n.4, p.687-695, 2007.

SUN, X. D.; HOLLEY, R. A. High hydrostatic pressure effects on the texture of meats and meats products. *Journal of Food Science*, v. 75, n. 1, p. R17-R23, 2010.

SUN, X.; CHEN, K.J.; BERG, E.P.; NEWMAN, D.J.; SCHWARTZ, C.A.; KELLER, W.L.; MADDOCK CARLIN, K.R. Prediction of troponin-T degradation using color image texture features in 10d aged beef longissimus steaks. *Meat Science*, v. 96, N. 2, p. 837-842, 2014.

SUZUKI, A. High pressure-processed foods in japan and the world. *Progress in Biotechnology*, v. 19, p. 365-374, 2002.

SUZUKI, A.; KIM, K.; HOMMA, N.; IKEUCHI, Y.; SAITO, M. Acceleration of meat conditioning by high pressure treatment. *High Pressure and Bioscience*. Montrouge, France: Colloques Inserm/John Libbey Eurotext, p. 219-227, 1992.

SUZUKI, A.M.; WATANABE, K.; IWAMURA, Y.; IKEUCHI. M. Effect of high pressure treatment on the ultrastructure and myofibrillar protein of beef skeletal muscle. *Agricultural and Biological Chemistry*. v.54, n.12, p.3085–3091. 1990.

SWATLAND, H. J. (1995). *On-line evaluation of meat*. Lancaster, PA: Technomic Publishing Company, Inc.

SZALATA, M.; POSPIECH, E.; GREASER, A.; LYCZYNSKI, A.; GRZES, B.; MIKOŁAJCZAK, B. Titin and troponin T changes in relation to tenderness of meat from pigs of various meatiness. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*, v. 14/55, n. 2, p. 139-144, 2005.

TAKAHIKO, A.; UENO, R. Involvement of cathepsins B and L in the post mortem autolysis of mackerel muscle. *Food Research International*, v. 30, n. 8, p. 585-591, 1997.

TOKIFUJI, AI.; MATSUSHIMA, Y.; HACHISUKA, K.; YOSHIOKA, K. Texture, sensory and swallowing characteristics of high-pressure-heat-treated pork meat gel as a dysphagia diet. *Meat Science*, v. 93, p. 843-848, 2013.

TONETO, E.R.L. Características do colágeno, textura e cor da carne (músculos *Longissimus*, *Semitendinosus*, *Supraspinatus* e *Infraspinatus*) de fêmeas bovinas adultas de quatro grupos

genéticos. UNICAMP. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, 2012.

TONISSI, B.E.; TULLIO, R.R.; NASSU, R.T.; MILORI, D.M.B.P.; JACOB, B.M.; FERREIRA, A.U.C. Análise de comprimento de sarcômero da carne de animais da raça nelore. In: JORNADA CIENTÍFICA EMBRAPA SÃO CARLOS, 3., 2011, São Carlos. *Anais...* São Carlos, 2011.

TORNBERG, E.; ANDERSSON, A.; VON SETH, G. Water distribution in raw pork muscle (*m. longissimus dorsi*) of different meat qualities, 39<sup>th</sup> Int. Congre. Meat Science. Technol. (1993).

TORNBERG, E.; WAHLGREN M.; BRONDUM; ENGELSEN, S.B. Pre-rigor conditions in beef under varying temperature- and pH-falls studied with rigometer, NMR and NIR. *Food Chemistry*, v. 69, p. 407–418, 2000.

VARDAG, T.; DIERKES, H.; KÖRNER, P. High Pressure food processing. *Food Tech Europe*, v. 3, n. 2, p. 106-110, 1995.

VÉRAS, A.S.C.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; VALADARES, R.F.D.; FERREIRA, M.A.; FONTES, C.M.S. Efeito do nível de concentrado sobre o peso dos órgãos internos e do conteúdo gastrointestinal de bovinos Nelore não-castrados. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 30, n. 3, p. 112-1126, 2001.

VILLAMONTE, G.; SIMONIN, H.; DURANTON, F.; CHÉRET, R.; LAMBALLERIE, M. Functionality of pork meat proteins: Impact of sodium chloride and phosphates under high-pressure processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 18, p. 15-23, 2013.

WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M.; CUNDIFF, L. V.; DIKEMAN, M. E. Effects of cooking and shearing methodology on variation in Warner-Bratzler shear force values in beef. *Journal of Animal Science*, v. 72, p. 2325–2330, 1994.

WHEELER, T. L.; SAVELL, J. W.; CROSS, H. R.; LUNT, D.K.; SMITH, S.B. Mechanisms associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle. *Journal of Animal Science*, v. 68, n. 12, p. 4206-4220, 1990.

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

WHIPPLE, G.; KOOHMARAIE, M.; DIKEMAN, M.E.; CROUSE, J.D.; HUNT, M.C.; KLEMM, R.D. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *Journal of Animal Science*, v.68, n. 9, p.2716-2728, 1990.

WILLIANS, A. New Technologies in Food Preservation and Processing: Part II. *Nutrition & Food Science*, v. 94, n. 1, p. 20-23, 1994.

WU, G.; CLERENS, S.; FAROUK, M.M. LC MS/MS identification of large structural proteins from bull muscle and their degradation products during post mortem storage. *Food Chemistry*, v. 150, p. 137-144, 2014.

WU, G.; FAROUK, M.M.; CLERENS, S.; ROSENVOLD, K. Effect of beef ultimate pH and large structural protein changes with aging on meat tenderness. *Meat Science*. v.98, p.637-645, 2014.

WU, Z.; BERTRAM, H. C.; KOHLER, A.; BÖCKER, U.; OFSTAD, R.; ANDERSEN, H. J. Influence of Aging and Salting on Protein Secondary Structures and Water Distribution in Uncooked and Cooked Pork. A Combined FT-IR Microspectroscopy and <sup>1</sup>H NMR, 2006.

WULF, D.M.; EMMETT, R.S.; LEHESKA, J.M.; MOELLER, S.J. Relationships among glycolytic potential, dark cutting (dark, firm and dry) beef, and cooked beef palatability. *Journal of Animal Science*, v. 80, p. 1895-1903, 2002.

YAMAMOTO, K.; MIURA, T.; YASUI, T. Gelation of myosin filament under high hydrostatic pressure. *Food Structure*, v. 9, n.4, p. 269-277, 1992.

YAMAMOTO, S.; NISHIUMI, T.; SUZUKI, A. Proteasome extracted from pressurized and aged skeletal muscles. In: ABE, F.; SUZUKI, A. (Eds.). *Fourth International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology*. Japan, JStage: Tsukuba, 2007.p. 25-26.

YAMAMOTO, S.; OTSUKA, Y.; BORJIGIN, G.; MASUDA, K.; IKEUCHI, Y.; NISHIUMI, T.; SUZUKI, A. Effects of a high-pressure treatment on the activity and structure of rabbit muscle proteasome. *Bioscience Biotechnology Biochemical*, v. 69, p. 1239-1247, 2005.

YAMASHITA, M.; KONAGAYA, S. Differentiation and localization of cathepsin proteinases responsible for extensive autolysis of mature chum salmon muscle (*Oncorhynchus keta*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 103B, n. 4, p. 999-1003, 1992.

ZAYAS, J. F. Solubility of proteins. In J. F. Zayas (Ed.), *Functionality of proteins in food* (pp. 6–75). Berlin: Springer, 1997.

ZHOU, Y.; HE, Q.; SU, D.; HUANG, H. Effects of ultra-high pressure tenderizing treatment on the quality characteristics of venison. *Journal of Food Process Engineering*, v.39, p. 196–203, 2016.