

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**TESE**

**Amaciamento da carne bovina de Nelore por Alta Pressão  
Hidrostática e Maturação**

**Otavio Cabral Neto**

**2011**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**AMACIAMENTO DA CARNE BOVINA DE NELORE POR ALTA  
PRESSÃO HIDROSTÁTICA E MATURAÇÃO**

**OTAVIO CABRAL NETO**

*Sob a Orientação do Dr.*  
**Amauri Rosenthal**

*e Co-orientação da Professora Dra.*  
**Arlene Gaspar**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ

Julho 2011

664.92  
C117a  
T

Cabral Neto, Otavio, 1979-  
Amaciamento da carne bovina de  
Nelore por alta pressão hidrostática  
e maturação / Otavio Cabral Neto -  
2011.  
87 f.: il.

Orientador: Amauri Rosenthal.

Tese (doutorado) - Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro,  
Programa de Pós-Graduação em Ciência  
e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 60-74.

1. Carne bovina - Teses. 2. Carne  
bovina - Análise - Teses. 3. Pressão  
hidrostática - Teses. 4. Nelore  
(Zebu) - Teses. I. Rosenthal,  
Amauri, 1960-. II. Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro.  
Programa de Pós-Graduação em Ciência  
e Tecnologia de Alimentos. III.  
Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS**

**OTAVIO CABRAL NETO**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de concentração em Tecnologia de Alimentos.

**TESE APROVADA EM -----/-----/-----**

---

**Amauri Rosenthal (Ph. D.) Embrapa/CTAA**  
Orientador

---

**Teófilo José Pimentel da Silva (Prof. Dr.) UFF**  
Membro externo

---

**Renata Torrezan (Dr.<sup>a</sup>) Embrapa/CTAA**  
Membro externo

---

**Victor Cruz Rodrigues (Prof. Dr.) UFRRJ**  
Membro externo

---

**Daniela de Grandi Freitas (Dra.) Embrapa/CTAA**  
Membro interno

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar me protegendo e me guiando em todos os momentos de minha vida.

A minha família, por sempre acreditar em mim.

Ao Pesquisador Orientador Dr. Amauri Rosenthal pela orientação, pela amizade, pelo carinho, meus sinceros agradecimentos.

As minhas amadas, esposa (Bruna) e filha (Lara), que mesmo sofrendo com minha ausência durante esta jornada, nunca faltaram com apoio e incentivo tão necessários à conclusão desta pesquisa. Amo demais vocês.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Arlene Gaspar pela Co-Orientação deste trabalho e ainda por todos os ensinamentos passados, pelas palavras de incentivo e pelos puxões de orelha.

A Pesquisadora Dr<sup>a</sup>. Rosires Deliza, pela ajuda e direcionamento das pesquisas.

A Pesquisadora Dr<sup>a</sup>. Marília Stephan, pela realização das análises do perfil de proteínas por eletroforese.

A amiga e sempre companheira Dr<sup>a</sup>. Simone Pereira Mathias, pela ajuda prestada durante toda jornada.

Ao Químico do Laboratório de Análises de Alimentos e Bebidas – LAAB UFRRJ, M.Sc. Juarez Vicente pela contribuição nas análises químicas e cromatográficas.

Aos Analistas do Laboratório de Análise Sensorial e Instrumental da EMBRAPA – CTAA, José Carlos Sá Ferreira e Aline Leandro, pela acolhida e contribuição durante as análises.

Ao amigo Willian da Planta Piloto II - EMBRAPA – CTAA, pela ajuda na pressurização das amostras.

Ao grande amigo e companheiro Jean Herbert Pereira (*in memoriam*) sócio do Frigorífico ITAMIX Distribuidora de comestíveis Ltda., pela preciosa ajuda com a logística e obtenção dos cortes cárneos utilizados para o presente estudo.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao Instituto de Tecnologia, por me oferecer a oportunidade de cursar esta Pós-Graduação.

A EMBRAPA – Agroindústria de Alimentos – RJ, pela contribuição e financiamento deste estudo.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

**MUITO OBRIGADO!**

**QUASE TUDO É POSSÍVEL  
QUANDO SE TEM DEDICAÇÃO E  
HABILIDADE. GRANDES  
TRABALHOS SÃO REALIZADOS  
NÃO PELA FORÇA, MAS PELA  
PERSEVERANÇA**

**“DIÊGO LIMA”**

## RESUMO

CABRAL NETO, Otavio. **Amaciamento da carne bovina de Nelore por Alta Pressão Hidrostática e Maturação**. 2011, p.74. Tese de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes níveis de pressão sobre a textura e outras características da carne; realizando a avaliação comparativa do processo de alta pressão (APH) e de maturação convencional sobre a textura e outras características da carne bovina de Nelore. A escolha da raça é que no Brasil a maior parte dos animais de abate é Nelore (*Bos indicus*) ou anelorado e estes animais apresentam principalmente para o mercado exterior, carne considerada menos macia em detrimento à carne de bovinos europeus (*Bos taurus*). O estudo foi realizado na EMBRAPA Agroindústria de Alimentos – RJ e no LAAB – Laboratório de Análises de Alimentos e Bebidas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ. Os animais foram abatidos no Matadouro Ferreira Landim, no município de Valença-RJ e a desossa dos traseiros foi realizada no frigorífico Frigean – Itaguaí – RJ. Foram utilizados 9 animais no primeiro ensaio e 15 no segundo, ambos os animais castrados, criados em regime de campo, alimentados exclusivamente de *Brachiaria decumbens*, com idade morfológica na 1ª dentição. Vinte quatro horas após abate mediu-se pH das carcaças, confirmando o estabelecimento do *rigor mortis*. Após o resfriamento e a separação das meias carcaças, os cortes primários (serrote) foram desossados em sala climatizada à 12°C, separando-se os cortes de contra filés (*Longissimus dorsi*). Os cortes controles foram embalados a vácuo e congelados entre -10°C para as análises posteriores. Os tratamentos utilizados foram: Primeiro ensaio: 1) controle (carne *in-natura* não processada); 2) APH (níveis de pressão de 100, 200, 300, e 400 MPa e duas condições de tempo de pressurização). Segundo ensaio: 1) controle (carne *in natura*); 2) maturação convencional (amostras embaladas a vácuo mantidas a 2°C/14 dias); e 3) APH (pressão de 200 Mpa). O modelo estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, e os dados submetidos à análise de variância (ANOVA), teste t de Student e F a 5% de significância. Quando necessários, aplicou-se também análise de regressão em XLSTAT. Para análise sensorial além de ANOVA utilizou-se a análise de CLUSTER, teste do QUI-quadrado e análise Múltipla de Fatores (MFA). Observou-se no primeiro ensaio que com o aumento da APH e do tempo de pressurização aumentou a força de cisalhamento e perda de peso por cozimento, e ainda alterou significativamente a cor da carne, tornando-a “pálida”. No segundo ensaio observou-se que a APH agiu positivamente nas características de maciez, pois foi observado menor valor para força de cisalhamento e maior valor para índice de fragmentação miofibrilar, sugerindo maior maciez. Apenas a cor da carne maturada convencionalmente foi alterada, com maiores valores para luminosidade. As análises de proteínas por eletroforese não apresentaram diferenças significativas. Observou-se alterações no teor de ácidos graxos entre os tratamentos, mas a relação saturado/insaturado entre a carne pressurizada e maturada convencionalmente foram semelhantes. A análise sensorial demonstrou segmentação de grupos entre os consumidores, mas em geral as carnes maturadas e *in natura* foram mais requeridas. A tecnologia de APH é um método eficiente para amaciamento da carne bovina de Nelore, com tempo reduzido em relação à maturação convencional, e pequena alteração nas características em comparação a carne *in natura*, porém são necessários mais estudos para avaliar a aceitação do consumidor.

Palavras chave: carne bovina, alta pressão hidrostática, maturação, análise sensorial, análises físico-químicas.

## ABSTRACT

CABRAL NETO, Otavio. **Nellore meat tenderization by high hydrostatic pressure and tenderness**. 2011, p.74. Doctoral thesis in Food Science and Technology. Institute of Technology, Department of Food Technology, Rural Federal University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

The aim of this research was to evaluate the effect of different levels of pressure on the texture and other characteristics of Nellore meat, as well as to evaluate the effectiveness of high pressure in the meat tenderisation in comparison to conventional maturation a cattle breed was selected due to the fact that the majority of slaughtered animals for meat in Brazil is Nelore (*Bos indicus*) and Zebu, and those animals are commonly assumed as being tender meat in relation to the European beef cattle in (*Bos taurus*), which causes negative impact in the exportation. In the first trial nine castrated animals were used and 15 in the second, all of them and fed in the field exclusively with *Brachiaria decumbens*, first dentition morphologically aged. After first 24 hours of carrying out the slaughter the carcasses pH was measured in order to confirm appropriate *rigor mortis* process establishment. After cooling down and separating half of the carcasses, the primary cuts were boned inside a 12 ° C-room. The striploin (*Longissimus dorsi*) were removed intact and submitted to the trials, while the control cuts were vacuum packed and frozen at between -10 and -32 ° C for further analysis. The treatments for the trials were: for the first trial: 1) control (not processed *in-natura* meat), 2) high pressure: pressure levels at 100, 200, 300, and 400 MPa and two conditions of time pressure (T1) only the time required to reach the required pressure and T2) T1 + 15 minutes of pressurization To establish the pressure; for the second trial: 1) control (raw beef), 2) conventional maturation (2°C for 14 days); 3) high pressure level at 200 Mpa starting with the meat at 5 ° C, the time required to achieve Anene pressure required. The statistical model used was completely randomized and data were submitted to analysis of variance (ANOVA), F at 5% significance level at t-Student test and, when necessary, to regression analysis using XLSTAT software. In addition, in the case of sensory assay, ANOVA was carried out by cluster analysis, chi-square and Multiple Factors Analysis (MFA). In the first trial it was observed that the shear force and cooking weight loss increased with the increase of pressure and pressurization time, along with a significant change (“whitening”) in the meat color. In the second assay it was observed that APH highly softened the meat in comparison to the maturation process, based on the lower shear force values and higher Miofibrillar Fragmentation Index (MFI). Only the color of the conventionally aged meat has changed, showing higher brightness values. The proteins analysis by electrophoresis showed no significant differences among the treatments. Significant differences were verified among the treatments regarding the fatty acid profile, although the saturated/unsaturated ratio for the pressurized and conventionally matured meat were similar. Sensory analysis has shown there were segmentation among the consumers, but in general the conventionally aged and the fresh meat were the most required. In principle the high hydrostatic pressure seemed to be an interesting and effective method for softening the Nellore beef, by reducing the time required for the for the conventional maturation and leading to small change compared to the characteristics fresh beef. However, further studies are needed to deeply assess consumer acceptance of the meat, mainly in the countries that import and consume Brazilian Nelore beef.

Keywords: aging, shear force, sensory analysis, colour, weight loss during cooking.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Força de cisalhamento de carne bovina ( <i>Longissimus dorsi</i> ) <i>in natura</i> e processadas a alta pressão, sob diferentes níveis de pressão e tempos de processo.	35
<b>Tabela 2.</b> Perda de peso por cozimento de carne bovina ( <i>Longissimus dorsi</i> ) de Nelore <i>in natura</i> e processadas a alta pressão, sob diferentes níveis de pressão e tempos de processo.	37
<b>Tabela 3.</b> Resultado de interação entre a pressão aplicada e o tempo de pressurização para o fator L* (luminosidade) da característica cor.	38
<b>Tabela 4.</b> Resultado de interação entre a pressão aplicada e o tempo de pressurização para o fator a* (intensidade da cor vermelho) da característica cor.	39
<b>Tabela 5.</b> Efeitos das condições de tratamento a APH (níveis de pressão e tempo de pressurização) sobre o atributo b* (intensidade da cor amarela) da característica cor.	40
<b>Tabela 6.</b> Resultados das análises de força de cisalhamento de carne bovina ( <i>Longissimus dorsi</i> ) <i>in-natura</i> , maturada e pressurizada sob alta pressão hidrostática.	42
<b>Tabela 7.</b> Resultados das análises de perda de peso por cozimento de carne bovina ( <i>Longissimus dorsi</i> ) <i>in-natura</i> , maturada e pressurizada sob alta pressão hidrostática.	43
<b>Tabela 8.</b> Resultados das análises de cor instrumental da carne bovina ( <i>Longissimus dorsi</i> ) <i>in-natura</i> , maturada e pressurizada sob alta pressão hidrostática.	43
<b>Tabela 9.</b> Resultados das análises de índice de fragmentação miofibrilar da carne bovina ( <i>Longissimus dorsi</i> ) <i>in-natura</i> , maturada e pressurizada sob alta pressão hidrostática.	44
<b>Tabela 10.</b> Resultados de teor de ácidos graxos de carne bovina ( <i>Longissimus dorsi</i> ) <i>in-natura</i> , maturada e pressurizada sob alta pressão hidrostática.	47
<b>Tabela 11.</b> Médias das notas de aceitação global e da textura considerando todos os consumidores (n=80).	48
<b>Tabela 12.</b> Médias para a aceitação <sup>§</sup> para os três segmentos identificados.	48
<b>Tabela 13.</b> Médias para a aceitação <sup>§</sup> em relação à textura para os três segmentos identificados.	49
<b>Tabela 14.</b> Frequência em que cada atributo foi mencionado para as amostras de carne bovina analisadas por 80 consumidores utilizando a metodologia CATA (“Check-all-that-apply”).	50

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1A.</b> Força de cisalhamento (Kgf) decorrente de processamento de APH com referência a variação do tempo.	36
<b>Figura 1B.</b> Força de cisalhamento (Kgf) decorrente de processamento de APH com referência a variação da pressão.	37
<b>Figura 2A.</b> Observação visual da cor da carne pressurizada e <i>in natura</i> , embalada a vácuo. As carnes pressurizadas na linha superior referem-se ao tratamento pressurizado a tempo de 15 minutos e as carnes da linha inferior referem-se as carnes pressurizadas apenas até o tempo de pressurização requerida.	41
<b>Figura 2B.</b> Observação visual da cor da carne pressurizada e <i>in natura</i> , sem embalagem a vácuo. As carnes pressurizadas na linha superior referem-se ao tratamento pressurizado a tempo de 15 minutos e as carnes da linha inferior referem-se as carnes pressurizadas apenas até o tempo de pressurização requerida.	41
<b>Figura 3.</b> Perfil eletroforético das proteínas extraídas da carne <i>in natura</i> , maturada convencional e pressurizada a 200 MPa.	46
<b>Figura 4.</b> Dendrograma dos consumidores.	49
<b>Figura 5.</b> MFA das repostas geradas no CATA para as três carnes bovinas considerando os três segmentos de consumidores, sendo: (a) segmento 1 (n=38); (b) segmento 2 (n=17); (c) segmento 3 (n=16).	52
<b>Figura 6.</b> Perfil do consumo de carnes dos consumidores participantes da análise sensorial	53
<b>Figura 7.</b> Distribuição por sexo dos consumidores participantes da análise sensorial.	53
<b>Figura 8.</b> Distribuição por idade dos consumidores participantes da análise sensorial.	54
<b>Figura 9.</b> Distribuição por grau de escolaridade dos consumidores participantes da análise sensorial.	54
<b>Figura 10.</b> Distribuição por renda, em salários mínimos (SM), dos consumidores participantes da análise sensorial. Salário mínimo do mês de junho de 2011. R\$ 545,00 (quinhentos e quarenta e cinco reais).	54
<b>Figura 11.</b> Frequência semanal de consumo de carne bovina dos consumidores participantes da análise sensorial.	55

## LISTA DE SIGLAS

UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
LAAB	Laboratório de Análise de Alimentos a Bebidas
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
CTAA	Embrapa Agroindústria de Alimentos
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
EEB	Encefalopatia espongiforme bovina
ABCZ	Associação Brasileira de Criadores de Zebu
ATP	Adenosina trifosfato
ADP	Adenosina difosfato
pH	Potencial hidrogeniônico
Ca <sup>+2</sup>	Cálcio
°C	Temperatura em graus Celsius
APH	Alta pressão hidrostática
MPa	Mega Pascal
US\$	Euro
%	Porcentagem
Kg	Kilograma
Kgf	Kilograma-força
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE, em inglês: High Performance Pressure Liquide Chromatography, <b>HPLC</b> )
CIE	<i>International Commission Illumination</i>
L*	Luminosidade
a*	Intensidade da cor vermelha
b*	Intensidade de cor amarela
CRA	Capacidade de retenção de água
g	Gramas
IFM	Índice de fragmentação miofibrilar
1DE	Unidimensionais
SDE-PAPGE	Sódio dodecil sulfato de gel de poliacilamida
Nb	Nebulina
MHC	Miosina
TN-T	Troponina T
TN-I	Troponina I
kDa	Kilo-Dalton
½	Símbolo da medida meio (=metade)
AG	Ácidos graxos
AGI	Ácidos graxos insaturados
AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
LDL	<i>Low Density Lipoproteins</i>
HDL	<i>High Density Lipoproteins</i>
CLA	Ácido linoléico conjugado
mg/g	Miligramas/grama
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances
JAR	Just-About-Right
CATA	Check-All-That-Apply

SIE	Serviço de Inspeção Estadual
cm	Centímetro
mm	Milímetro
mm/min	Milímetro/minuto
ANOVA	Análise de variância
BOD	Demanda bioquímica de oxigênio
RPM	Rotações por minuto
MFA	Análise múltipla de fatores
V/V	Volume/volume
ADQ	Análise descritiva quantitativa

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
1.1 Justificativa	1
1.2 Objetivo Geral	2
1.2.1 Objetivos específicos	2
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	3
2.1 A raça Nelore	3
2.2 Rigor Mortis e fatores relacionados à sua resolução	3
2.3 pH e Temperatura da Carne	6
2.4 Processos de Maturação	8
2.5 Uso da Alta Pressão Hidrostática (APH)	9
2.6 Fatores que Influenciam a Maciez da Carne	11
2.7 Cor	16
2.8 Perdas de Peso por Cozimento	18
2.9 Índice de Fragmentação Miofibrilar	19
2.10 Análise do Perfil de Proteína por Eletroforese	21
2.11 Perfil de Ácidos Graxos	24
2.12 Análise Sensorial	26
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	28
3.1 Animais e Cortes Primários	28
3.2 Processamento da Carne	28
3.2.1 Preparo das amostras	28
3.2.2 Maturação convencional	29
3.2.3 Alta pressão hidrostática	29
3.3 Métodos Analíticos Laboratoriais	29
3.3.1 Força de cisalhamento e perdas de peso por cozimento	30
3.3.2 Cor e índice de fragmentação miofibrilar	30
3.3.3 Perfil de proteínas	31
3.4.4 Teor de ácidos graxos (AG)	32
3.3.5 Análise sensorial	32
3.4 Tratamento e Delineamento Experimental	33
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	35
4.1 Avaliação do Efeito de Diferentes Níveis de Pressão e Tempo de Pressurização Sobre a Textura e Outras Características da Carne	35
4.1.1 Efeito de diferentes níveis de pressão e tempo de pressurização sobre a força de cisalhamento	35
4.1.2 Efeito dos níveis de pressão e tempo de pressurização sobre a perda de peso por cozimento	37
4.1.3 Efeito dos níveis de pressão e tempo de pressurização sobre a cor da carne	38
4.2 Efeito Comparativo da APH e da Maturação Convencional Sobre a Textura e Outras Características da Carne	42

4.2.1 Efeito comparativo da APH e maturação convencional sobre a força de cisalhamento	42
4.2.2 Efeito da APH e maturação convencional sobre a perda de peso por cozimento	42
4.2.3 Efeito da APH e maturação convencional sobre a cor	43
4.2.4 Efeito da APH e maturação convencional sobre o índice de fragmentação miofibrilar	44
4.2.5 Efeito da APH e maturação convencional sobre o perfil de proteínas	45
4.2.6 Efeito da APH e maturação convencional sobre o perfil de ácidos graxos	46
4.2.7 Análise sensorial das amostras	48
<b>5 CONCLUSÃO</b>	<b>56</b>
<b>6 SUGESTÕES PARA NOVOS ESTUDOS</b>	<b>57</b>
<b>7 ANEXOS</b>	<b>58</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>60</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura de corte é uma atividade econômica explorada em todos os continentes, estando presente em ecossistemas com os mais diversos climas, solos e vegetação e no Brasil, responde por cerca de 47% do total da produção de carnes, sendo desenvolvida em quase todos os municípios.

O Brasil se destaca por possuir volume de terra e um clima favorável ao crescimento de forrageiras, favorecendo assim a pecuária, que vem alcançando excelente destaque na participação de PIB brasileiro, atingindo valores superiores a 4,5% anuais.

Em 2006 o efetivo total do rebanho bovino no Brasil era de aproximadamente 170 milhões de cabeças, com projeção de crescimento que apontando para o final do ano de 2010 com um total de 204 milhões (IBGE, 2006). Tais índices colocam o país em destaque com o maior rebanho comercial do mundo, perdendo somente em número de cabeças para a Índia, onde o abate de vacas não é realizado por caráter religioso, sendo este animal considerado sagrado.

A carne bovina é mundialmente consumida e, no Brasil, atinge valores superiores a 36kg/hab/ano, pois é tida como um alimento de alto valor nutricional por possuir grande parte dos aminoácidos essenciais necessários aos seres humanos (ABIEC, 2008). O Brasil, após o ano de 2003, em que ocorreu a chamada doença da “vacca louca” (EEB – Encefalopatia Espongiforme bovina) em alguns países europeus, se destacou no cenário mundial como maior exportador de carne bovina do mundo. No entanto, o País ainda é visto como produtor de elevada quantidade de carne bovina, mas necessitando galgar melhores patamares em termos de qualidade. O principal destino de exportação da carne brasileira é a União Européia, onde existe um mercado bastante amplo, mas ao mesmo tempo muito exigente quanto ao padrão de segurança qualidade higiênico-sanitária e sensorial (maciez, cor, sabor e suculência). A competitividade e mesmo a sobrevivência da indústria da carne bovina está intimamente associada a sua eficiência em gerenciar a qualidade e segurança do produto, de modo a satisfazer as normas vigentes e propiciar a satisfação do consumidor, e na redução com perdas e refugos, tornando a atividade mais viável economicamente.

Embora o mercado, atento aos padrões internacionais, esteja sinalizando para o consumo de carne de animais jovens abatidos entre 24 a 26 meses, e com genética superior para produção de carne, a base do abate no Brasil são animais bovinos zebuínos ou azebuados, nos quais a carne é considerada “menos macia” quando comparado com a dos bovinos taurinos.

Alguns processos, como a maturação, podem entrar neste contexto propiciando que a carne brasileira seja mais competitiva. É neste sentido que o avanço tecnológico, em particular através do emprego da tecnologia de alta pressão, considerando aspectos da composição da carcaça e de suas características sensoriais, seja melhor estudado de modo a otimizar a qualidade do produto.

## 1.1 Justificativa

A carne, seja ela de qual espécie for, deve corresponder ao máximo às expectativas do consumidor, no que se refere aos atributos de qualidade sanitária, nutritivas e sensoriais, além de, obviamente, ter preço criteriosamente estabelecido pelo justo valor aceitável de mercado. Atualmente, o consumo de carne de bovinos a partir de animais zebuínos é uma realidade, tanto no mercado interno quanto no externo, conforme atestado pelo montante da exportação

brasileira. No entanto, de forma a manter-se e até ampliar tal volume, é necessário buscar-se constantemente inovações tecnológicas que possam ter a segurança e melhorarem a qualidade do produto e, em particular, incrementarem sua maciez, que é considerada como o principal atributo percebido pelo consumidor, e que supostamente limita a aceitação da carne brasileira em certos mercados. Necessita-se, simultaneamente, de processos que incrementem o rendimento e produtividade, reduzindo, por exemplo, o tempo de permanência em estoque nos frigoríficos e, ao mesmo tempo, reduza os custos de processo. Nesse sentido, a tecnologia de alta pressão surge como alternativa promissora, e seu estudo torna-se necessário para viabilizar a compreensão de seu potencial de utilização, objetivando melhorar a qualidade e ampliar o consumo e a competitividade da carne nacional.

## **1.2 Objetivo Geral**

Avaliar o efeito do processo de APH (alta pressão hidrostática) em diferentes níveis de pressão sobre a maciez e outras características de qualidade da carne bovina da raça Nelore (*Longissimus dorsi*), e comparar com a maturação convencional.

### **1.2.1 Objetivos específicos**

- Avaliar o efeito de diferentes níveis de pressão (APH) sobre a maciez da carne.
- Avaliar o efeito dos níveis de pressão (APH) sobre a perda de peso por cozimento.
- Avaliar o efeito dos níveis de pressão (APH) sobre a cor da carne.
- Comparar o efeito da APH e da maturação convencional sobre a maciez da carne.
- Comparar o efeito da APH e da maturação convencional sobre a perda por cozimento.
- Comparar o efeito da APH e da maturação convencional sobre a cor da carne.
- Comparar o efeito da APH e da maturação convencional sobre o índice de fragmentação miofibrilar.
- Comparar o efeito da APH e da maturação convencional sobre o perfil de proteínas observados por eletroforese.
- Comparar o efeito da APH e da maturação convencional sobre o teor de ácidos graxos.
- Avaliar a preferência em relação á carne de Nelore pressurizada, maturada pelo processo convencional e *in-natura* (não tratada), bem como descrevê-las em termos das características sensoriais percebidas pelo consumidor de carne.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Raça Nelore

Segundo a ABCZ (1938), a raça Nelore correspondente ao Ongole da Índia e predomina atualmente no cenário pecuário brasileiro. Por estimativas não ortodoxas, pode-se inferir que esta raça representa 80% da matéria-prima da indústria da carne no país. Aliás, as características da raça como produtora de carne vêm apresentando índices de desempenho econômicos notáveis. Seguramente, mesmo naqueles nichos de mercado em que os cruzamentos têm apresentado bom crescimento, a raça Nelore tem papel fundamental, e se constitui, por excelência, em grande e inestimável patrimônio genético para a bovinocultura brasileira. Entretanto, a predominância da raça Nelore nem sempre foi um fato na história dos zebuínos no Brasil. Dentre as raças indianas aqui introduzidas, a Nelore foi a última a despertar interesse de criadores brasileiros.

Para a raça Nelore, especificamente, as importações de 1930 e especialmente, as de 1960 e 1962, foram decisivas para o início de seu crescimento acentuado no país. A década de 60 coincide, no Brasil, com a retomada do crescimento de nossa fronteira oeste, formada por grandes extensões de cerrados, viabilizados agora pela introdução das brachiárias. A consolidação desse novo cenário cerrados-brachiárias formou o ambiente adequado para que a raça Nelore prosperasse. O seu comportamento de gado andejo, de alto instinto de defesa própria e de defesa da cria, parindo regular e naturalmente bezerros medianos, saudáveis e que se locomovem imediatamente após o parto junto com o rebanho, determinou o crescimento da raça de forma natural e em uma escala geométrica, até atingir os índices atuais.

A raça Nelore se expandiu lentamente, primeiro no Rio de Janeiro e na Bahia, depois em Minas Gerais e por último em São Paulo, e atualmente, o rebanho bovino brasileiro possui mais de 200 milhões de cabeças. Destas, 110 milhões são da raça Nelore, o que a torna o alicerce da cadeia produtiva pecuária. Dos mais de 200 milhões de cabeças, cerca de 150 milhões são de gado de corte e 50 milhões de gado leiteiro.

### 2.2 *Rigor mortis* e Fatores Relacionados à Sua Resolução

Nas primeiras 24 horas após o abate, inicia-se uma série de transformações bioquímicas e estruturais no tecido muscular denominadas no conjunto de *rigor mortis*, quando o músculo é convertido em carne. Este período é de grande relevância para a qualidade final da carne e dependente de vários fatores (ABERLE et al., 2001).

O início do processo de *rigor mortis* ocorre imediatamente após o abate do animal, em função da sangria que interrompe o fornecimento de oxigênio e nutrientes, além da quebra no sistema de eliminação dos metabólitos (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 alterações químicas importantes, como 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, além de ser proporcional ao acúmulo de ácido láctico 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 (ALVARADO & SAMS, 2000; ABERLE et al., 2001).

Antes do início da contração, as cabeças dos filamentos de miosina unem-se ao ATP, que é clivado em ADP e fosfato inorgânico, quando ocorre a ligação entre a cabeça de miosina e a de G-actina, até que ocorra a superposição máxima entre os filamentos, conferindo a contração máxima (GUYTON & HALL, 2002).

A concentração de ATP na fibra é suficiente para iniciar o *rigor mortis*, após o ATP ser fracionado formando o ADP, sendo o mesmo posteriormente refosforilado (ORDÓÑEZ et al., 2005). A principal fonte de energia utilizada para reconstituir o ATP é a fosfocreatina, molécula que também possui ligação fosfato de alta energia, sendo clivada instantaneamente e promovendo a fixação de um novo íon fosfato ao ADP. Porém, a quantidade de fosfocreatina na fibra também é limitada, correspondendo ao quádruplo de ATP. A segunda fonte utilizada para reconstituir o ATP é o glicogênio muscular que, através de fracionamento enzimático rápido, é convertido em ácido pirúvico e ácido láctico, liberando energia. Por último, através do metabolismo oxidativo, que consiste na reação do oxigênio com vários nutrientes celulares com liberação de energia (QUALI, 1990; SILVA et al., 1999).

As reações químicas, que ocorrem no músculo vivo durante a contração e após o abate, indicam a similaridade entre os processos. Essa contração começa através de impulsos nervosos à junção mioneural, despolarizando sarcolema, chegando ao interior das fibras através dos túbulos T, liberando  $\text{Ca}^{+2}$  no retículo sarcoplasmático. Os íons de  $\text{Ca}^{+2}$  livres, em torno de  $10^{-5}$  moles/litro, se associam a troponina C, capaz de fixar até quatro íons (QUALI, 1992; MATSUSHI & OKINATI, 1997). O complexo troponina passa por alteração conformacional, deslocando a molécula de tropomiosina, que se localiza entre duas cadeias do filamento de actina, liberando sítios ativos deste filamento. Estes eventos permitem que ocorra a contração em função do atrito entre os filamentos de actina e miosina, movidos pelas cabeças de miosina dos filamentos aderidas aos sítios de ligação com a actina, ocorrendo a sobreposição que corresponde ao encurtamento do sarcômero, resultante da aproximação das duas linhas Z (HUFF-LONERGAN & LONERGAN, 2005).

A fase de rigor ocorre quando a maior parte das cabeças de miosina permanece aderida aos sítios de ligação da actina, devido à deficiência de moléculas de ATP para sua liberação, por ser necessária a presença de ATP para o relaxamento muscular, após a contração normal. Tais moléculas podem ser reconstituídas de molécula de ADP. Para tal, a energia responsável pela geração de ATP é fornecida pela glicólise ou fosfocreatina. As moléculas de ATP, fosfocreatina e de glicogênio são formas de reserva de energia e suas maiores concentrações são fatores básicos para adiar a fase de rigor (ROSS et al., 1993).

O músculo, durante a contração, diminui até 1/3 de seu tamanho original, entretanto o comprimento dos filamentos finos e espessos permanece constante, enquanto o comprimento do sarcômero diminui. Isso ocorre porque os filamentos não se encurtam, deslizam-se, caracterizando uma sobreposição. 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).

São reconhecidas três fases do processo de *rigor mortis*: pré-rigor, na qual o músculo conserva sua extensibilidade, enquanto os níveis de ATP e glicogênio muscular ainda são elevados; rigor, que está relacionada ao aumento gradativo da contração muscular, até seu

grau máximo, obtido pelo deslizamento entre os filamentos de actina e miosina; e a fase de *post rigor*, quando a dureza da carne diminui até valores próximos aos encontrados antes do abate, assim como a diminuição da capacidade de retenção de água e o pH sobem até níveis de 5,9 – 6,2 (SWATLAND, 1984; PRATES, 2000).

Segundo ORDÓÑEZ et al. (2005) os músculos que apresentam maior quantidade de fibras brancas, como de aves e suínos, possuem alta atividade anaeróbica e portanto, a glicólise e a degradação de ATP serão mais rápidas, quando comparados às fibras vermelhas. Em condições normais de processamento, o tempo de contração máxima do rigor depende da espécie animal. Nos frangos ocorre em menos de 30 minutos; nos perus, em menos de uma hora; nos suínos entre 25 minutos e três horas; e nos bovinos, de seis a doze horas.

A taxa de degradação protéica na tenderização 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 devida ao sistema de calpaínas e ATPase miosina que necessitam de íons  $Ca^{+2}$  livres no citoplasma para sua atividade, pois foi demonstrado que quando as organelas celulares reservam mais esse cátion, tais enzimas perdem sua função, mesmo em pH e temperatura favoráveis (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  $Ca^{+2}$  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). 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 (KIRSCHKE et al., 1982; YAMASHITA & KONAGAYA, 1992). 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).

Embora o tipo de mecanismo responsável pelo processo de *rigor mortis* seja aceito como igual para todos os animais, existem diferenças qualitativas entre as espécies. O efeito de diferentes temperaturas sobre o processo de *rigor mortis* em bovinos e ovinos foram analisados por Hwang et al. (2004), e relataram que quanto maior a temperatura fornecida ao músculo, maior a liberação de  $Ca^{+2}$  no sarcoplasma, e conseqüentemente, mais rápida a proteólise, comprovando a importância das calpaínas no processo de resolução do *rigor mortis* e na maciez da carne, além de demonstrarem uma relação linear entre diminuição de pH e aumento do cálcio livre. A atividade de calpaínas em 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 (DELBARRE-LADRAT et al., 2004).

Hopkins & Thompson (2001) relataram que o envolvimento de catepsinas, proteínas lisossomais, tem sido questionado. 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 5,6, quando o processo de resolução do rigor já teria se iniciado. Koohmaraie (1992), Goll et al. (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. Dransfield (1993) afirmou que durante o *post mortem* as calpaínas não são completamente ativadas até que o pH atinja valores em torno de 6,1, que coincide com o pH do início da resolução do processo. Hopkins & Thompson (2001) salientaram que isso não impede que proteólise ocorra antes que o pH atinja esse valor, mesmo com menor liberação de íons de cálcio, e essas enzimas não estejam completamente ativas.

Silva et al.(1999) analisaram as alterações em carne bovina resfriada a 0-2°C e armazenada por 13 dias, e concluíram que, durante esse período, o tempo de armazenamento foi proporcional à melhoria de maciez, mostrando que com o decorrer da estocagem há maior degradação de proteínas, comprovando o processo gradativo de tenderização.

### 2.3 pH e Temperatura da Carne

O resfriamento *post mortem* é um período importantíssimo para a microestrutura e características da carne, como a maciez, a capacidade de retenção de água e a cor (ZAMORA et al., 1996).

Durante o desenvolvimento do *rigor mortis*, a temperatura e pH iniciais das carcaças diminuem gradativamente. Por isso, temperatura e pH são utilizados como parâmetros para monitorar a qualidade de 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  $Ca^{+2}$  do retículo sarcoplasmático (KANDA et al., 1977; BYRNE et al., 2001).

A taxa de resfriamento do músculo durante o *rigor mortis* influencia a glicólise e ação das proteases, além de proporcionar o declínio do pH e, conseqüentemente, a taxa de tenderização (MARSH et al., 1987; ABERLE et al., 2001). Para Yu et al. (2005), o pH final da carne depende do teor de glicogênio no músculo, além de ser importante fator influenciador da capacidade de retenção de água. O declínio muito acelerado do pH após a sangria poderia estar relacionado à desnaturação de proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares, além de alterações de forças de repulsão eletrostática entre os filamentos de actina e miosina.

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 conseqüências indesejáveis, como o encurtamento pelo frio ou “cold shortening” e, quando o congelamento ocorre antes da resolução deste processo, ocorre o rigor do descongelamento ou “thaw rigor” (PEARSON & DUTSON, 1995; PARDI et al., 2001). O encurtamento pelo frio ocorre quando a temperatura do músculo oscila entre 0 e 5°C, na primeira etapa do processo de conversão do músculo em carne e, nessas condições, o retículo sarcoplasmático perde capacidade de reter  $Ca^{+2}$ , fazendo com que haja excesso desse cátion no sarcoplasma, com conseqüente aceleração das reações bioquímicas e diminuição de 20 a 40% do sarcômero. Quando não ocorre o resfriamento em carcaças bovinas, mas o congelamento antes do processo do *rigor mortis*, ao ser descongelado ocorre o encurtamento físico das fibras entre 60% a 80% do tamanho normal (ABERLE et al., 2001; PARDI et al., 2001; ORDÓÑEZ et al., 2005).

No resfriamento de carcaças a temperatura da câmara deve oscilar entre 0 e 4°C por 18h às 24h para bovinos e de 12h às 18h para suínos, tempos necessários para promover a transferência de calor apropriada visando o desenvolvimento do *rigor mortis*, influenciado pelo metabolismo celular. Nessas condições, ocorre o decréscimo gradual do pH sem promover o encurtamento das fibras pelo frio, mantendo ainda a qualidade microbiológica (GEESINK et al., 2001; PARDI et al., 2001). Para Lee (1986), a diminuição da temperatura do músculo é um fator importante para o desenvolvimento de maciez de carnes. Alterações dessa taxa de encurtamento pelo frio em carcaças podem ser minimizadas pelo controle da temperatura ambiente, uma vez que as temperaturas elevadas dos músculos aceleram o declínio do pH, por permitir que reações enzimáticas se prolonguem.

Atualmente, tem sido utilizado processo mais rápido de resfriamento por motivo de ordem econômica e para diminuir a quebra de peso e reduzir crescimento da microbiota inicial e, neste caso, são aplicadas temperaturas entre -5 e -8°C durante as primeiras duas horas e, a partir de então, é utilizada temperatura normal de resfriamento, entre 0 e 4°C, para impedir o encurtamento das fibras musculares pelo frio, porém esta metodologia só pode ser utilizada, quando antes for realizada a estimulação elétrica da carcaça (PARDI et al., 2001).

A influência da temperatura sobre a qualidade de carne de cordeiro foi analisada por Redmond et al. (2001), em um experimento utilizando temperatura de -20°C nas primeiras 3 horas e 30 min, seguidas por +4°C durante as demais 20 horas e 30 min, comparando com o resfriamento convencional de +4°C por 24 horas. Estes autores comprovaram que não houve diferença significativa na maciez das carnes de cordeiro entre os dois processos testados, pois, provavelmente, não tenha sido alterada a velocidade das reações proteolíticas responsáveis pelas modificações na textura.

Marsh (1954), um dos primeiros pesquisadores a investigar a relação entre temperatura e pH durante o *rigor mortis*, analisou a influência de diferentes temperaturas de armazenamento, entre 7°C e 43°C, em músculo *Longissimus dorsi* de bovino, e concluiu que a taxa de glicólise e o decréscimo de pH foram mais rápidos em temperaturas mais elevadas.

A temperatura e o pH contribuem significativamente para a maciez de carnes por seus efeitos no comprimento do sarcômero e proteólise (KOOHMARAIE et al., 1996). Temperaturas entre 1°C e 7°C são as melhores para que ocorra o *rigor mortis*, conferindo à carne melhor maciez (TORNBERG et al., 2000). Este atributo sensorial na carne bovina é muito influenciado pela temperatura do músculo nas primeiras três horas *post mortem*. Se, nesse período, for mantida a temperatura interna do músculo por volta de 37°C, através da espessa cobertura de gordura ou manipulação de carcaças a temperatura ambiente, resultaria em maior maciez, porém não seria viável devido ao desenvolvimento da microbiota (MARSH et al., 1981).

Fernandes & Tornberg (1994) determinaram, através de ensaios experimentais, a influência da variação da temperatura no *rigor mortis* da carne suína. Utilizaram duas temperaturas, 12 e 35°C, e comprovaram que a contração máxima ocorreu em menor tempo a 35°C quando comparada com 12°C. A resolução do rigor também foi mais rápida em função das maiores taxas de declínio do pH e de ATP.

De acordo com Honikel et al. (1980) e Pardi et al. (2001), a degradação anormal do glicogênio muscular pode ocorrer devido ao estresse pré-abate, causando a diminuição brusca do pH, antes da dissipação do calor inerente a massa muscular do animal e, como consequência, a desnaturação das proteínas musculares, afetando propriedades bioquímicas e tecnológicas como a diminuição da capacidade de retenção de água, mudanças na aparência da cor normal da carne, e produção do fenômeno chamado carne pálida, flácida e exsudativa (denominada PSE, a partir de “pale, soft and exudative”). Segundo Aberle et al. (2001), em contrapartida, animais abatidos em condições de estresse por um período prolongado, animais

fadigados, apresentam pouca variação do pH da massa muscular em relação a animais abatidos em condições normais, causada pela baixa concentração de glicogênio no momento do abate. Por isso, as proteínas nesse caso apresentam maior capacidade de retenção de água, tornando a carne pegajosa e escura, além de ser mais susceptível à contaminação microbiológica, fenômeno chamado de carne “dark, firm and dry” (DFD), significando, em português, escura, firme e seca.

## 2.4 Processos de Maturação

Segundo Pedreira (2006) vários métodos foram desenvolvidos, testados e implantados comercialmente nos últimos anos, visando melhorar a maciez da carne. Entre eles podemos citar a estimulação elétrica, suspensão pélvica, manejo de câmara fria, maturação, utilização de cloreto de cálcio e de vitamina D<sub>3</sub>. Depois da estimulação elétrica a maturação é o método mais amplamente aplicado por ser de fácil utilização e muito eficiente para amaciar a carne. Além disso, é uma forma natural de amaciamento (sem a adição de produtos químicos), uma vez que enzimas existentes na carne promovem as modificações estruturais suficientes para seu amaciamento.

A maturação é o amaciamento (tenderização) da carne que ocorre após o *rigor mortis*, durante a estocagem refrigerada. Outra definição é que carne maturada é aquela resultante do processo que consiste em manter a carne refrigerada em temperaturas próximas de 0°C, por um período suficiente para torná-la não apenas amaciada, como também melhorar outras qualidades sensoriais inerentes, como por exemplo, o sabor (LAWRIE, 1985; KUBOTA et al., 1993; PUGA et al., 1999).

Segundo Goll et al. (1992) e Koohmaraie (1992), durante a maturação ocorrem importantes mudanças químicas e estruturais (degradação da linha Z, degradação de desmina, degradação e desaparecimento de troponina-T, degradação de titina e nebulina, aparecimento de polipeptídeos de peso molecular de 95 e 28 - 32 kDa, e a não degradação dos miofilamentos actina e miosina), que vão influenciar a maciez da carne.

Pearson et al. (1983), avaliando os estudos de diversos autores, resume que a maturação da carne consiste em estocá-la em temperatura de refrigeração (1°C – 5°C) por alguns dias, o que comprovadamente melhora sua maciez pela ocorrência do fenômeno da proteólise do tecido conjuntivo e fibras musculares, medidas pelas proteinases endógenas: as calpaínas e catepsinas.

Kauffman & Marsh (1994) explicaram que características desejáveis na carne, como maciez, sabor e aroma, aumentam à medida que esta é mantida por alguns dias sob temperaturas entre 0°C – 5°C, sendo que há uma rápida melhora nos primeiros quatro dias até atingir a melhor condição aos 14 dias *post mortem*, sendo estas modificações pelo incremento da qualidade durante a maturação, presumidamente enzimáticas.

Aberle et al. (2001) mostraram que com o passar do tempo ocorre progressiva degradação da linha Z, dissociação do complexo actina-miosina e a fragmentação miofibrilar, possivelmente causada pelas enzimas endógenas proteolíticas. E, ainda, que a carne maturada é mais saborosa por ter ocorrido à quebra das moléculas de ATP, IMP e pela fermentação microbiana que ocorre após o período de estocagem.

Olson et al. (1976) mostraram que o índice de fragmentação miofibrilar aumentou após sete dias de estocagem a 2°C, e a força de cisalhamento e avaliação sensorial indicaram que a maciez aumentou com a utilização desta técnica.

A definição do processo de maturação, segundo Puga et al. (1999), é dada como sendo a técnica de manter a carne sob refrigeração, em torno de 0° C, até torná-la macia e melhorar outras qualidades sensoriais, como por exemplo, o sabor. Outro aspecto importante na

maturação é a necessidade de embalagem a vácuo, que retarda o crescimento de bactérias aeróbicas putrefativas e favorece o crescimento das bactérias lácticas, que, por sua vez, produzem substâncias antimicrobianas. Segundo Asghar & Yeates (1978), a formação de ácido láctico devido à degradação do glicogênio provoca a queda do pH de 7,3 para aproximadamente 5,5 no espaço extracelular. Esse fato diminui a dissociação de eletrólitos fracos e aumenta a permeabilidade da membrana citoplasmática, facilitando a difusão de enzimas citoplasmáticas e diminuindo a coesividade da miofibrila, com ruptura de organelas citoplasmáticas, principalmente os lisossomos e o retículo endoplasmático. A consequência dessas modificações bioquímicas é a diminuição da coesão entre as miofibrilas e o aumento da maciez.

A maciez da carne é a característica sensorial que determina sua aceitabilidade pelo consumidor e é influenciada pela idade e espécie (ou raça do animal), quantidade e solubilidade do colágeno, comprimento do sarcômero das miofibrilas, força iônica, extensão da degradação das proteínas miofibrilares e tratamentos pré e pós abate.

## **2.5 Uso da Alta Pressão Hidrostática (APH)**

A procura por tecnologias não convencionais de processamento de alimentos vem, mundialmente, norteando grande parte das pesquisas nas instituições públicas e em empresas privadas. O surgimento de demandas por produtos de melhor qualidade nutricional e sensorial, com características mais próximas ao produto *in natura*, tem levado à busca de processos capazes de preservar o produto contra os agentes deteriorantes, sem acarretar os efeitos adversos dos processamentos convencionais, notadamente dos processos envolvendo tratamento térmico. Como a obtenção de uma alta qualidade é um dos desafios da indústria de alimentos, técnicas de preservação moderadas, capazes de reter a qualidade inicial dos alimentos, estão sendo consideradas interessantes por processadores de alimentos, mesmo utilizando-se tecnologias de alto custo no período inicial de implementação (DONSÍ et al., 1996).

Hite (1899) e Bridgman (1914) foram os pioneiros nas pesquisas usando a tecnologia de alta pressão hidrostática (APH), com aplicação agroalimentar, no caso para inativação de bactérias em leite, sendo que estudos mais sistemáticos e intensos em alimentos somente ocorreram no final do século passado.

Além de potencialmente permitir a esterilização comercial e prolongar a validade comercial dos alimentos, esta tecnologia permite uma série de outras aplicações para a indústria de alimentos (VARDAG et al., 1995). Além disso, podem induzir a mudanças relevantes na textura dos alimentos, resultantes de redução no volume e de mudanças no pH (WILLIAMS, 1994).

Segundo Solomon et al. (2006), o processo de alta pressão hidrostática (APH), ao qual esses autores denominaram como alta pressão hidrodinâmico (HDH) devido à sua curta duração, basicamente no período de elevação de pressão, se mostrou muito efetivo para melhorar a maciez de vários cortes cárneos. Quando comparado à maturação convencional para amaciamento, o APH foi mais efetivo. O amaciamento acontece em frações de um milissegundo, além de gastar menos energia, espaço e mão de obra, quando comparado à outros processos.

O processo de alta pressão hidrostática (APH) e a maturação são técnicas de pós abate para aumentar a maciez da carne. O processo de APH utiliza “shockwaves” (ondas de choque) de pressão para romper a estrutura do músculo fisicamente, enquanto o amaciamento pela maturação está relacionado com a degradação proteolítica das proteínas miofibrilares (BOWKER et al., 2006).

O processamento consiste em submeter o produto a níveis de pressões hidrostáticas bastante elevadas (50 a 1000 MPa), bem acima daqueles normalmente empregados nos tratamentos convencionais (ZIMMERMAM & BERGMAN, 1993).

O uso de pressão evita o dano de calor excessivo que ocorre em processos térmicos. O fluido usado no recipiente de pressão tem propriedades adiabáticas próprias e influencia a temperatura final do alimento. Fluidos típicos usados em recipientes de pressão para a esterilização de alimentos incluem glicerol, água, álcool 70%, óleos comestíveis, e água/emulsões de óleos comestíveis (MEYER et al., 2000).

Dois princípios formam a base do efeito da APH: o princípio de Lê Chatelier e o princípio da pressão isostática. O primeiro é aquele no qual qualquer fenômeno, 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 (CHEFTEL, 1995). O segundo indica que a pressão é transmitida de uma forma uniforme e quase instantânea, através de uma amostra biológica (BARBOSA-CÁNOVAS & RODRÍGUEZ, 2002).

No processamento isostático, o produto é normalmente embalado em garrafa ou bolsa plástica e colocado no interior do vaso de pressão (ou recipiente) para ser processado. Esse vaso contém um meio líquido (geralmente água) que transfere a pressão ao produto (PELLIETIER, 2001). Experimentos demonstraram que qualquer embalagem com flexibilidade suficiente para compensar a compressão do ar dentro dela e a redução do volume do alimento (aproximadamente 12% a 400 MPa, ou até 15% em pressões acima de 500 MPa) (FARKAS & HOOVER, 2000) pode ser adotada sem sofrer danos. A energia mecânica de pressurização dentro do recipiente resulta em uma geração de calor moderada e temporária, chamada calor adiabático, onde a cada 100 MPa de pressão, a temperatura dentro do recipiente é aumentada de 3 a 6°C, dependendo do sistema, que pode variar conforme a temperatura do processo e a pressão aplicada, e a natureza do produto. Se o alimento contém uma quantidade significativa de gordura, por exemplo, o aumento da temperatura será maior (ROVERE, 1995; FARKAS & HOOVER, 2000; BUTZ & TAUSCHER, 2002; DE HEIJ et al., 2002; ANSTINE, 2003).

Durante o processamento, é necessário um tempo inicial para atingir a pressão de trabalho programada. Logo após o tempo de pressurização no nível desejado, o vaso de pressão é submetido à descompressão (BARBOSA-CÁNOVAS & RODRÍGUEZ, 2002).

Os custos envolvidos na aquisição dos equipamentos e do processamento ainda limitam o uso mais extensivo dessa tecnologia. Avanços têm sido realizados no desenho e construção desses equipamentos para tornar os custos de processamento mais competitivos em relação à esterilização e ao congelamento. Em termos de custos operacionais, estima-se que para modificar a linha de processamento já existente e obter o produto sob alta pressão seria necessário em torno de US\$ 0,0455/libra, o que pode ser considerado bastante reduzido, nesse caso considerando-se a depreciação dos equipamentos como sendo de 10 anos (MEYER et al., 2000).

Uma melhor compreensão dos efeitos da alta pressão na célula é essencial para que o desenvolvimento de processos com aplicação desta tecnologia seja eficaz, e a elucidação dos aspectos do mecanismo de inativação microbiana induzida pela pressão possa auxiliar na preservação dos alimentos.

As proteínas são polímeros formados por uma seqüência definida de aminoácidos. O material genético de cada célula é capaz de produzir uma única seqüência de aminoácidos de uma maneira bastante reprodutível. Entretanto, esta seqüência unidimensional de aminoácidos necessita sofrer arranjos, dobrando-se sobre si mesma para que, ao final, forme-se uma proteína com uma estrutura tridimensional definida, dotada de função biológica. Este processo

é conhecido como enovelamento proteico e a proteína final enovelada é dita nativa, portando uma estrutura secundária (alfa hélices, folhas beta e voltas), terciária (arranjo tridimensional) e quaternária (interação entre moléculas protéicas). Esta estrutura única enovelada é mantida por um somatório de interações (pontes de hidrogênio, interações iônicas, interações hidrofóbicas, forças de Van Der Waals), porém altamente específicas que se estabelecem entre diferentes regiões da proteína. Além dessas, existem ligações mais fortes como pontes dissulfeto, ligações covalentes, que são difíceis de serem alteradas (CREIGHTON, 1990; PALMIERI, 2005). Esporos de bactérias podem sobreviver a pressões acima de 1000 MPa (CHEFTEL, 1995). Segundo Patterson et al. (1995), o tratamento a alta pressão não inativa completamente microrganismos e uma pequena proporção da população sofre injúria. Segundo estes autores, a recuperação das células injuriadas depende das condições após o tratamento.

Quando expostas às condições de alta temperatura, pH extremo, APH, etc., as proteínas podem desenovelar-se e perderem parcialmente sua estrutura e ação. A APH age ao forçar a entrada de água no cerne proteico, o que resulta na quebra das interações fracas e, conseqüentemente, ocorre o desenovelamento proteico (CREIGHTON, 1987; PALMIERI, 2005).

Os alimentos são sistemas complexos que contêm microbiota altamente diversificada. A carne e os produtos cárneos são extremamente perecíveis, exigindo cuidados específicos em todas as etapas do seu processamento e manuseio, de forma a eliminar ou reduzir os riscos de deterioração. Pesquisadores têm estudado a aplicação da APH na indústria de carnes, utilizando diversas combinações de pressão, tempo e temperatura.

A aplicação da APH pode causar danos à fisiologia microbiana e à sua viabilidade, tanto danificando as células como inativando-as. Assim, exerce efeito direto sobre a segurança dos alimentos, podendo prolongar a sua validade comercial (LÓPEZ-CABALLERO et al., 1999).

As membranas biológicas têm sido identificadas como as mais afetadas pela pressão. As membranas são compostas por uma camada de fosfolipídios envolvidos por proteínas funcionais que, entre outras funções, exercem papel importante no transporte de íons e outras substâncias para as células (NIVER et al., 1999; SAN MARTÍN et al., 2002).

As formas vegetativas dos eucariotos, tais como os fungos e leveduras, são inativadas por pressões entre 200 e 300 MPa. Bactérias Gram positivas são mais resistentes ao calor e à pressão do que as bactérias Gram negativas. Esporos de bactérias podem sobreviver a pressões acima de 1000 MPa (CHEFTEL, 1995). Segundo Patterson et al. (1995), o tratamento a alta pressão não inativa completamente microrganismos e uma pequena proporção da população sofre injúria. Segundo estes autores, a recuperação das células injuriadas depende das condições após o tratamento.

## **2.6 Fatores que Influenciam a Maciez da Carne**

Segundo 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. Os atributos mais importantes para a textura da carne são a maciez e a suculência. Existe um consenso em estudos com consumidores que a maciez é o fator mais importante entre todos os atributos de qualidade que caracterizam o consumo de carne (JUNG et al., 2000, 2000a; DENOYELLE & LEBIHAN, 2003).

A maciez é talvez o fator mais importante para o consumidor, para julgar a qualidade

da carne. Os fatores que podem afetar a maciez da carne têm duas origens:

- Fatores *ante-mortem*: idade, sexo, nutrição, exercício, estresse antes do abate, presença de tecido conjuntivo, espessura e comprimento do sarcômero;
- Fatores *post-mortem*: estimulação elétrica, *rigor-mortis*, esfriamento da carcaça, maturação, método e temperatura de cozimento e pH final.

Entre os fatores *ante mortem* que comprovadamente atuam sobre a maciez da carne destacam-se raça ou genótipo, alimentação, idade, sexo, aplicação de promotores de crescimento e manejo pré-abate. Entre os fatores *post mortem*, podemos citar aqueles inerentes ao abate industrial, como o resfriamento e a consequente velocidade de queda de pH muscular, já que frio interfere diretamente nos processos bioquímicos *post mortem*, sendo responsável pela transformação de músculos (células vivas) em carne (alimento) (FELÍCIO, 1997). Os corretos procedimentos após o abate são de grande importância para a produção de um produto final de qualidade. Convencionalmente, o processamento das carcaças de bovinos inclui sua refrigeração logo após o abate, de modo a se atingir temperaturas de aproximadamente 7°C na massa muscular, antes de seu processamento ou de ser destinada à comercialização. Este tratamento visa garantir a segurança higiênica e sanitária das carnes, porém pode resultar em uma contração excessiva dos sarcômeros, o que resulta em uma carne mais dura, caso não seja executada de maneira adequada (RUBENSAM & MONTEIRO, 2000).

Conforme já citado, outro parâmetro importante na qualidade da carne é o pH, pois está relacionado com a cor, a maciez e a capacidade de retenção de água da carcaça. Além disso, o tempo necessário para alcançar o pH final varia de acordo com a espécie animal, velocidade de resfriamento e nível de atividades que antecedem o abate (RODBOTEN et al., 2004). De acordo com Luchiari Filho (2000), a queda do pH se deve à utilização das reservas de glicogênio e sua consequente transformação em ácido lático, por meio do processo de glicólise anaeróbica.

O efeito do tratamento térmico sobre a maciez da carne é um reflexo da ação de temperaturas elevadas sobre o colágeno e proteínas miofibrilares. Considerando o comprimento do sarcômero, o aquecimento da carne até a temperatura de 45°C não acarreta nenhuma modificação. Entre 45-55°C, há um leve aumento do sarcômero, devido, provavelmente a um relaxamento e intumescimento da estrutura do tecido conjuntivo. Acima de 55°C inicia o processo de encurtamento dos sarcômeros, podendo chegar até 25% da estrutura original. Com o aquecimento de uma miofibrila isolada não ocorre o aumento do sarcômero, onde conclui-se que o intumescimento à 45-55°C é devido ao tecido conjuntivo (ROÇA, 2000).

As diferentes proteínas musculares se desnaturam a distintas temperaturas. As proteínas solúveis e a miosina são termolábeis e sua desnaturação começa a 45-50°C. As proteínas do tecido conjuntivo desnaturam a temperaturas de 60-70°C, dependendo do grau de ligações cruzadas do colágeno. A força de cisalhamento é utilizada para avaliar a maciez da carne. Uma força maior para o cisalhamento indica maior dureza da carne. Durante o aquecimento até 50-60°C ocorre um aumento da força de cisalhamento. A 65°C ocorre uma queda brusca desta força, que aumenta novamente até chegar aos 80°C, para em seguida diminuir novamente. Esta curva da força do cisalhamento durante o aquecimento pode variar conforme a idade do animal. Novilhos de dezoito meses apresentam curvas diferentes de bezerras de seis meses, principalmente devido à presença de enlaces transversais termoestáveis de colágeno (ROÇA, 2000).

A suculência da carne cozida é a sensação de umidade observada nos primeiros movimentos de mastigação, devido à rápida liberação de líquido pela carne e, também, da sensação de umidade mantida, devido principalmente à gordura que estimula a salivação. A

gordura intermuscular funciona como uma barreira contra a perda do suco muscular durante o cozimento, aumentando, portanto a retenção de água pela carne e aumento da suculência. A gordura intramuscular aumenta a sensação de suculência na carne. A maturação da carne a 0°C por 14 a 21 dias também aumenta a suculência da carne, devido ao aumento da capacidade de retenção de água. A suculência da carne depende também da perda de água durante o cozimento. Temperaturas de 80°C produzem maiores perdas no cozimento que temperaturas ao redor de 60°C (ROÇA, 2000).

Crouse et al. (1989) realizaram experimento com percentagens de 0, 25, 75 e 100% de participação de genes de zebuino e demonstraram que, à medida que se aumentavam os graus de participação genética zebuino nos cruzamentos, aumentava a força de cisalhamento. Deste modo, esses autores concluíram que a variação da maciez da carne foi independente do meio ambiente, responsabilizando o aumento do genótipo zebuino pela redução da maciez da carne. Posteriormente, resultados semelhantes também foram encontrados por Koch et al. (1993). Os animais dos grupos genéticos de origem européia (*Bos taurus*) tendem, em idades mais jovens, a apresentar características de carcaça e de carne capazes de garantir um produto com qualidade mais adequada aos mercados de exportação. Pesquisas demonstraram correlação positiva entre a maior porcentagem de genes *Bos indicus* - origem indiana - do animal e a baixa maciez da carne maturada (WHEELER & KOOHMARAIE, 1994). Observaram ainda, que animais que continham menos de 25% de genes *Bos indicus* apresentavam a mesma característica de carne, no *post mortem*, dos animais *Bos taurus*. Algumas raças européias apresentam mais gordura na carcaça, apresentando carne maturada mais macia que a dos zebuínos (WHIPPLE et al., 1990).

Segundo Johnson et al. (1990) a maturação possibilitou aumento significativo na maciez após dez dias. Tal procedimento pode ser vantajoso do ponto de vista qualitativo, principalmente quando se trata de animais com alto grau de genes zebuino. A carne de animais com 75% de genes zebuino, após dez dias de maturação, apresentou força de cisalhamento semelhante ao da carne de animais Angus que não foi submetida à maturação. No Brasil, Restle et al. (1999) realizaram trabalho semelhante a Crouse et al. (1989) e Johnson et al. (1990), porém os animais foram de cruzamentos de Hereford e Nelore. De maneira semelhante aos trabalhos anteriores, os autores relatam efeitos negativos nos parâmetros de maciez e palatabilidade da carne com o aumento de genes zebuino, tendo encontrado valores de força de cisalhamento de 6,31; 8,32; 8,28; 9,39 Kgf e painel de degustação para maciez 5,80; 5,10; 5,60; 5,10 respectivamente para 0; 25; 50 e 75% de sangue da Raça Nelore no cruzamento. Crouse et al. (1989) sugeriram que, talvez, a principal causa da diferença na maciez tenha ocorrido devido à menor fragmentação da miofibrila, e por existir maior quantidade de tecidos conjuntivos em animais zebuínos que europeus. Johnson et al. (1990), no entanto, não observaram diferenças nas quantidades de tecido conjuntivo entre animais Brahman e Angus.

O entendimento das variações qualitativas da carne é possível através do uso de raças ou cruzamentos que possibilitem uma quantidade mínima de gordura subcutânea, visando garantir adequado resfriamento e processamento da carne, além de assegurar qualidade para o consumidor. Segundo Felício (1997), os atributos da qualidade da carne podem ser divididos em dois: a qualidade visual, que atrai ou repele o consumidor na hora da compra; e a qualidade gustativa, normalmente só percebida após seu preparo. Esses atributos podem sofrer influência de vários fatores, destacando-se os intrínsecos, vinculados aos genótipos dos animais, ambientais; e os fatores extrínsecos, que podem ser confundidos com os procedimentos técnicos adotados pelos matadouros-frigoríficos (manejos pré e pós-abate) e demais segmentos, até o consumidor final (BULTOT et al., 2002).

Algumas das propriedades físicas da carne fresca, tais como suculência e maciez, são

difíceis de medir objetivamente. Estas propriedades são geralmente avaliadas por provadores treinados através dos sentidos humanos. No entanto, estas propriedades da carne são tão importantes quanto outras facilmente quantificáveis. Muitas características relacionadas com o próprio músculo contribuem para as tais propriedades físicas dentre os quais se citam: o processo de *rigor mortis*, o conteúdo de gordura intramuscular, o conteúdo de tecido conectivo, o tamanho das fibras musculares (MADRUGA et al., 2004).

O estado de contração muscular é um fator que contribui para a maciez da carne, desta forma o procedimento de como a carcaça é pendurada tem importância para determinar o comprimento do sarcômero, que sendo maior contribui para uma carne mais macia. O conteúdo da gordura intramuscular ou de “marmoreio”, que se refere à gordura entre os feixes de fibras musculares, constitui um fator de grande efeito na maciez e no sabor das carnes, observando-se aumento deste parâmetro com a idade do animal e o peso de abate, com grande variação entre as espécies. Vários estudos têm sido realizados com objetivo de medir a textura através de parâmetros físicos, os quais são muitas vezes comparados com análises subjetivas feitas por provadores treinados. Segundo Otremba et al. (1999), o método físico de medir a força de cisalhamento através de uma célula de “Warner-Bratzler” tem sido bastante utilizado e, quando comparado com a análise sensorial, uma alta correlação pode ser comumente encontrada.

De acordo com Oliveira (2000), o mercado exige um maior rendimento do traseiro no frigorífico e que a carne tenha uma cor adequada, suculência e maciez, sendo esta última, atualmente, uma das prioridades da indústria, principalmente o mercado internacional.

A temperatura deve ser analisada quando se fala em fatores que influenciam na maciez devido a sua influência no processo enzimático, pois, sem dúvida, existe uma aceleração da queda de pH em temperaturas próximas a 30°C (KOOHMARAIE et al., 1996). Junqueira et al. (1998) acrescentaram, ainda, que somente nos trabalhos com resfriamento lento das carcaças pode-se observar aceleração do processo de proteólise pelo estímulo elétrico, além da queda acentuada do pH, que de certo modo está ligado à temperatura, e seus efeitos bioquímicos.

A maciez do músculo é influenciada pelo tipo e quantidade de tecido conectivo, que promove a firmeza e a contração das fibras musculares, promovendo a dureza miofibrilar. A textura da carne começa a ser quebrada com a mastigação, entre as ligações do tecido conectivo perimísio, onde a gordura intramuscular está localizada, de modo que a gordura de infiltração pode prejudicar as ligações fibrosas, permitindo uma quebra mais fácil (WOOD, 1990).

O nível de marmoreio também está relacionado à maciez, além de ser um fator visual para o consumidor, embora uma pequena porcentagem da variabilidade na maciez, cerca de 5 a 11%, pode ser atribuída às diferenças no marmoreio, podendo-se incluir como mecanismos responsáveis pela maciez, o conteúdo e a solubilidade do colágeno, o estado de contração do músculo e a degradação das miofibrilas (SAINZ, 1996).

De acordo com Felício et al. (1982), a maturação é um processo para amaciamento, que consiste na estocagem de cortes cárneos por um período de 15 a 21 dias, em temperatura acima do ponto de congelamento da carne, ou seja, ao redor de 2°C. Porém, a maturação é um fenômeno complexo que ocorre a partir da resolução da rigidez cadavérica, e que se prolonga durante a estocagem refrigerada, envolvendo um conjunto enzimático, com destaque para a  $\mu$ -calpaína (cálcio dependente, responsável pelo amaciamento) e a calpastatina (inibidora da calpaína) (RUBENSAM et al., 1998). Esse processo é influenciado por muitas variáveis, tais como a espécie e raça do animal, velocidade de glicólise, quantidade e solubilidade do colágeno, comprimento do sarcômero das miofibrilas, força iônica e degradação das proteínas miofibrilares (FELÍCIO, 1997; RUBENSAM & MONTEIRO, 2000).

A maturação da carne é o fenômeno de resolução do *rigor mortis*. O processo é iniciado pela atividade das enzimas calpaínas, a m-calpaína e  $\alpha$ -calpaína, e estas atuam degradando a linha Z e as proteínas Desmina, Titina, Nebulina, Troponina, Tropomiosina e Proteína C, que contribuem para o enfraquecimento da estrutura miofibrilar (FELÍCIO et al., 1982). Koohmaraie (1992) descreveu as alterações ocorridas no músculo esquelético, durante a estocagem após o abate, algumas das quais são resultados de perda da integridade do tecido que causam o amaciamento. Alguns processos ocorridos são: afrouxamento ou degradação da Linha Z; degradação da Desmina, Nebulina, Titina; desaparecimento da Troponina T e aparecimento de polipeptídeos indicando proteólise, etc. No entanto, durante os processos de maturação as principais proteínas contráteis, actina e miosina, não são afetadas (MANTESE, 2002). Vários estudos realizados com animais super precoces demonstraram que o processo de maturação em zebuínos (Nelore) pode melhorar a maciez, tornando-a semelhante a dos taurinos, como foi observado em vários estudos (CHARDULO, 2000; SILVEIRA, 2001; CERVIERI et al., 2003; ARRIGONI, 2003; BIANCHINI et al., 2004).

Recentemente, tem sido publicado um grande número de trabalhos a respeito da aceleração do amaciamento por maturação de carne acondicionada, durante o processo, que resulta de mudanças ocorridas na estrutura das miofibrilas causadas pela alta pressão (KENNICK et al., 1980; RIFFERO & HOLMES, 1983; LOCKER & WILD, 1984; MACFARLANE, 1985; SUZUKI et al., 1990, 1992; CHEFTEL & CULIOLI, 1997).

O tratamento com alta pressão é uma técnica que tem sido estudada recentemente com objetivo de amaciamento de carne *in natura*. Segundo Solomon et al. (2006), o processo de APH mostrou-se adequado para aumentar a maciez de vários cortes de carne. Quando comparado à maturação convencional para amaciamento, o APH resultou mais efetivo, propiciando redução em torno de 23% na força de cisalhamento, determinada pelo método de Warner Bratzler Shear Force (WBSF), mesmo em tempos mais prolongados de maturação: 0 dias (6,33 vs 8,17 kgf), 5 dias (5,06 vs 6,60 kgf) e 8 dias (4,52 vs 5,82 kgf). Foram encontrados valores significativamente maiores ( $p < 0,001$ ) para fragmentação miofibrilar no processo com APH quando comparado com os demais tratamentos, independente do número de dias de maturação.

Ma & Ledward (2004) processando carne bovina e utilizando pressões de 0,1 a 800MPa, encontraram melhoria na maciez em pressão de 200 MPa, porém, em contrapartida houve um diminuição da maciez da carne em amostras pressurizadas acima de 400 MPa.

Segundo Sun & Holley (2010) os efeitos da alta pressão na maciez ou maturação de carnes é dependente da fase de *rigor mortis*, pressão, temperatura e sua combinação. Normalmente tratamentos com pressões mais baixas ( $< 200$ MPa) podem amaciar carnes em fase *pré-rigor mortis*, enquanto carnes em fase *pós-rigor mortis* o amaciamento com alta pressão só pode ser alcançado em temperaturas mais elevadas (40 a 80°C). Isso ocorre principalmente pela desnaturação, decorrentes da alta pressão, sobre as estruturas miofibrilares na fase pré-rigor e da necessidade de temperaturas elevadas na fase pós-rigor para que ocorra a gelatinização das estruturas de tecido conjuntivo, lembrando ainda que temperaturas elevadas podem causar modificações na cor, o que no comércio de carne *in natura* não é desejável.

Sikes et al. (2010) compararam a textura de carne bovina *post-rigor* (*Sternomandibularis*) cozida a 60°C por 20 minutos, submetida ou não a tratamento a 200MPa, antes do cozimento. As análises de textura apontaram uma melhora significativa na maciez decorrentes da pressurização prévia, com base em valores de força máxima, reduzindo em 49N o pico máximo da força de cisalhamento obtida pelo método de Warner Bratzler.

O amaciamento de carnes durante a observação *post-mortem* causada por alta pressão tem sido geralmente atribuído ao rompimento de proteínas miofibrilares por várias proteases

endógenas, em particular pelas catepsinas (YAMAMOTO et al. 2007). Buckow et al. (2010) estudaram a atividade das proteases na carne utilizando um modelo de pressão e temperatura combinadas em um substrato modelo, e observaram que a aplicação de alta pressão tem o potencial de alterar a estabilidade e a atividade catalítica de catepsina D. Observaram que a inativação dessa enzima foi acelerada com aumento da pressão ou da temperatura, e seu maior ponto de maior 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 alta pressão.

Homma et al. (1995, 1996) estudaram os efeitos da pressurização hidrostática nas atividades das proteases dos complexos de calpaínas ( $\mu$ -calpaína, m-calpaína e o inibidor calpastatina) e de catepsinas em carne de coelho. Os autores observaram que em carnes pressurizadas acima de 100 MPa, os níveis de calpaína apresentaram certa diminuição com o aumento da pressão e, a 300 MPa, os níveis de calpaína mostraram-se bastante reduzidos. As amostras controles e pressurizadas, obtidas a partir de extratos, foram submetidas à cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* – HPLC) e foi observado que calpaínas e calpastatina perderam suas atividades com um aumento crescente da pressão; porém, o grau de perda resultou diferente em cada enzima. Dessa forma, enquanto as calpaínas resistiram a alterações até a pressão de 200 MPa, as calpastatinas foram inativadas a 100 MPa. Verificaram, ainda, que a APH aumentou a liberação das catepsinas lisossomais e, como decorrência, houve o incremento de suas atividades no músculo, bem como o aumento das atividades das calpaínas pela liberação de  $\text{Ca}^{+2}$  do retículo sarcoplasmático, e a inativação de calpastatina. Assim, o aumento da atividade das calpaínas e catepsinas na carne pressurizada e a inativação de calpastatinas, conjuntamente verificados a 200 MPa, resultaram no amaciamento da carne. Resultados similares foram encontrados por Hugas et al. (2002), que observaram que carnes tratadas a 200 MPa apresentavam inibição da ação da calpastatina; porém, nesse caso, somente a 400MPa foi observada degradação da calpaína.

Jung et al. (2000a, 2000b) observaram um aumento significativo na atividade das enzimas lisossomais (catepsinas) na carne bovina (músculos *Logissimus dorsi* e *Bíceps femoris*) pressurizada a 520 MPa, o que foi mantido durante todo o processo de maturação. No entanto, tal incremento de atividade não refletiu na melhoria da maciez da carne ou em maior velocidade de maturação. A melhoria da maciez da carne foi atribuída a um conjunto de modificações no estado de contração e modificações acentuadas nos componentes miofibrilares a partir da aplicação da pressão, resultando ainda em maior perda por cozimento. Em outro estudo, trabalhando com os mesmos cortes de carne, porém com pressões variando entre 100 e 600 MPa, os mesmos autores verificaram que a alta pressão causa modificações na estrutura miofibrilar e que essas são dependentes do nível de pressão utilizada no tratamento, sendo que modificações relevantes são encontradas somente quando utilizadas pressões acima de 300 MPa.

## 2.7 Cor

A percepção de cor corresponde à luz de certa frequência de onda refletida por um objeto. O tom é determinado pela quantidade de luz refletida que está diretamente relacionada e depende da concentração de substâncias coloridas (pigmentos) no objeto. Entretanto, o brilho depende da quantidade de luz que é refletida pelo objeto, em comparação com a luz que incide sobre o mesmo (FREITAS, 2005).

A cor é a primeira característica sensorial percebida pelo consumidor. 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 o qual ocorrem alterações na superfície, influenciando a aceitação dos consumidores (FELDHUSEN et al., 1995; ORDÓÑEZ et al., 2005). A cor interfere em outros atributos sensoriais, como o sabor e a textura, devendo ser assim eliminada sua influência em uma análise sensorial relacionada às demais propriedades (MILLAR et al., 2000; FREITAS, 2005).

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 quantidade de mioglobina varia de acordo com a espécie, a idade, o sexo, o músculo e a atividade física. Outro fator importante que influencia o conteúdo de mioglobina da carne de diferentes espécies é a proporção entre os três tipos de fibras: vermelhas, intermediárias ou brancas, ocorrendo variações inclusive, entre músculos da mesma carcaça (ABERLE et al., 2001).

A mioglobina armazena oxigênio para a contração muscular. Sua molécula é formada por uma porção protéica, a globina, que é dobrada em oito segmentos helicoidais em torno do grupo heme, de natureza não protéica, tendo como um dos constituintes o átomo de ferro ligado com os de hidrogênio. O ferro pode encontrar-se em estado reduzido ( $Fe^{2+}$  ou ferroso) ou oxidado ( $Fe^{3+}$  ou férrico). O  $Fe^{3+}$  está presente na molécula da 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, ou ainda, pode compartilhar elétrons com o oxigênio molecular, formando a oximioglobina ( $MbO_2$ ), de espectro de absorção correspondendo ao vermelho vivo (ORDÓÑEZ et al., 2005). Para Huidobro et al. (2003), a cor da carne depende da concentração e estado de oxidação da mioglobina e da estrutura da carne. Essas três formas podem ser reversíveis entre si. A mioglobina pode se converter em oximioglobina a partir da fixação de oxigênio e, o inverso, por desoxigenação (MARTINEZ et al., 1999).

O teor de oxigênio ligado a mioglobina formando a oximioglobina é que influencia a cor das carnes. Em muitos casos, principalmente quando fica exposta à venda, a oxigenação é desejável, pois confere um tom mais agradável ao consumidor, em relação aos cortes embalados a vácuo (MARTINEZ et al., 1999). Nesse caso, além de tornar o ambiente anaeróbio inibindo o crescimento de inúmeras bactérias, retarda autooxidação da fração lipídica elevando a validade comercial, além de influenciar diretamente na cor da carne, onde oximioglobina converte-se em metamioglobina, normalmente causando certa rejeição (JOHN et al., 2005).

Carlez et al. (1995) investigaram os efeitos da alta pressão na cor e no conteúdo de mioglobina de carne moída embalada a vácuo. Eles notaram uma cor rósea na carne tratada a 200 – 350 MPa, a qual tornou-se marrom acinzentada a 400 – 500 MPa. Quer dizer, houve um decréscimo no conteúdo de mioglobina a 200 – 500 MPa, uma redução na oximioglobina, e um aumento na metamioglobina a 400 – 500 MPa. Os autores sugeriram que a descoloração da carne durante a alta pressão é devido ao efeito clareador a 200 – 300 MPa causados pela desnaturação da globina, liberação do grupamento heme ou oxidação do ferro da mioglobina a 400 MPa. Estes autores concluíram que a perda de cor da carne bovina submetida à APH é um fenômeno complexo, e que pressões em torno de 200 MPa provocam efeito branqueador, onde a coloração rosada torna-se mais pálida. Simultaneamente, verificaram que os valores de  $L^*$ , notadamente, aumentaram.

Shigehisa et al. (1991) encontraram mudanças similares nos valores de  $L^*$  e  $a^*$  em carne suína pressurizada. Os valores de  $L^*$  começaram a aumentar em pressões entre 100 e 200 MPa, alcançando um valor máximo em pressões entre 300 e 400 MPa. Verificaram que,

acima de 600 MPa, não houve nenhuma alteração. Os autores verificaram que um decréscimo moderado nos valores de  $a^*$  ocorreu em pressões entre 100 e 200 MPa, progredindo até 600MPa, e relataram que nenhuma explicação era determinada para estes fenômenos.

Jung et al. (2003), estudando os efeitos da alta pressão sobre a cor da carne bovina (músculo *Biceps femoris*), e empregando pressões variando de 50-600 MPa a 10°C, observaram alteração nos parâmetros cor total e metamioglobina a pressões acima de 300MPa. Os valores de metamioglobina são aumentados com o aumento da intensidade da pressão, provocando diminuição da cor vermelha na carne, o que é acompanhado por um aumento na diferença total de cor, em relação à carne não tratada.

McArdle et al. (2010) estudaram os efeitos combinados do tratamento de alta pressão e da temperatura na carne bovina (*Pectoralis profundus*) utilizando pressões de 200, 300 e 400 MPa a duas diferentes temperaturas (20°C e 40°C), e concluíram que a pressurização a 200 MPa teve um menor impacto sobre os parâmetros de cor do que pressões maiores. O processamento a alta pressão teve um efeito significativo sobre os parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), sendo que com exceção do tratamento a 200 MPa a 20°C, todas as demais condições resultaram em um aumento no valor de  $L^*$  (luminosidade), associado ao “embranquecimento/perda de brilho” atribuído à desnaturação da globina, deslocamento heme ou liberação e oxidação de íons ferrosos. Marcos et al. (2010), trabalhando com carne bovina (*Longissimus dorsi*) e utilizando pressões variando de 200 – 600 MPa encontraram resultados semelhantes, observando que em amostras pressurizadas a pressões acima de 200 MPa ocorreram alterações relevantes na cor.

## 2.8 Perdas de Peso por Cozimento

Sá (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 afetar sua aceitação, visto que pode alterar significativamente a cor e textura, além do valor nutritivo, pois no suco perdem-se proteínas solúveis, vitaminas e minerais. A menor suculência da carne deve-se à perda da água durante o cozimento, sendo menor, quanto maior a Capacidade de Retenção de Água (CRA). A CRA pode ser definida como a aptidão da carne em reter total ou parcialmente a água presente na carne ou, eventualmente, a adicionada durante seu processamento. Trata-se, portanto, da capacidade de manter o conteúdo aquoso mesmo durante a aplicação de forças externas, como a compressão, o impacto e o cisalhamento ou, ainda, ao longo de um determinado processo, como o congelamento e o cozimento (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Durante o cozimento da carne, parte da gordura sólida se dissolve liberando certa quantidade para o meio. As gorduras intramuscular e externa podem se soltar da carne ou serem recapturadas pelas fibras de proteínas internas da carne magra. Os líquidos ou a suculência que a carne perde incluem água acrescida de mínimas quantidades de proteína, nitrogênio não proteico e minerais. Portanto, além da água, outros constituintes, além da gordura, são também perdidos durante o cozimento (GOUTEFONGEA & DUMONT, 1990).

A suculência, fator que contribui para a aceitação da textura da carne, corresponde à umidade percebida durante as primeiras mordidas produzidas pela rápida liberação de fluidos. A suculência varia de acordo com a quantidade de perda de líquidos durante o cozimento, caracterizando a intensidade da liberação do suco da carne (PRICE & SCWIEGERT, 1994).

Para Geesink et al. (2001) e Ordóñez et al. (2005), a capacidade de retenção de água da carne influencia no desenvolvimento das características sensoriais, como a cor, textura, firmeza e, principalmente, suculência, além do valor nutritivo e comercial. Desse modo, com a resolução do *rigor mortis*, ocorre aumento da CRA quando comparada ao início do

processo, devido à desorganização da estrutura miofibrilar. Esta capacidade é maior quanto mais lenta for a glicólise e mais alto for o pH final, quanto menor for a superfície de corte e quando estes são realizados no sentido longitudinal das fibras.

Para Honikel et al. (1986), quanto menor o comprimento do sarcômero, menor a capacidade de retenção de água, pois durante o *rigor mortis*, parte da água migra do meio intracelular para o espaço extracelular, devido à diminuição do espaço entre as fibras e rompimentos na membrana plasmática causados pelo declínio do pH, fazendo com que a água seja direcionada ao interstício, mesmo que de um meio hipertônico.

Segundo Huff-Lonergan & Lonergan (2005), dentro da estrutura muscular existem inúmeros compartimentos, nos quais a água está presente, como os espaços intermiofibrilar, extramiofibrilar e extracelular, e entre os feixes musculares.

A perda de água ocorre de diferentes formas dependendo da maneira como está ligada. Quando a água é constituinte do espaço extracelular, espera-se que seja perdida com muito mais facilidade do que a contida entre as miofibrilas. Por ser uma molécula dipolar, a água possui afinidade se ligando a moléculas de proteínas, sendo esta fração definida como água fortemente ligada ou de constituição, apresentando mobilidade reduzida entre os compartimentos das fibras, e correspondendo a cerca de 0,5g de água por grama de proteína. Por ser de aproximadamente 200mg/g a proporção de proteína no músculo, a água fortemente ligada corresponde a menos de 10% do total, sendo muito resistente a forças extremas. Essa fração aquosa é muito resistente e tem influência na temperatura de congelamento ou aquecimento (FENNEMA, 1993; HUFF-LONERGAN & LONERGAN, 2005).

Em relação à carne bovina, os valores encontrados para a perda de peso por cozimento variaram entre 23,3% e 30, 84% (WALLACE et al., 1999; DESTEFAINS et al., 2000; GEESINK et al., 2001; KERTH et al., 2003;).

McArdle et al. (2010) estudando os efeitos da APH na carne bovina (*Pectoralis profundus*) sobre a perda por cozimento observaram que as amostras tratadas a 300 e 400MPa apresentaram perdas por cozimento ligeiramente maiores que a amostra não tratada, embora fossem apenas significativa em 400 MPa. Os maiores níveis de pressão testada (300, 400MPa) induziram maiores perda por cozimento ( $p<0.01$ ) em relação ao processamento em 200MPa, sugerindo um efeito negativo nos níveis mais elevados de pressão sobre as propriedades de ligação de água da carne. Este resultado concordam com Kim et al. (2007), que também relataram maiores perdas cozimento no músculo semitendinoso tratado a 300 e 400 MPa, que em 200 MPa.

Outros autores também relataram redução nas propriedades da água em níveis mais elevados de pressão (Crehan et al., 2000; Jung et al., 2000). Jung et al. (2000) atribuiu a perda da capacidade de ligação da água a uma contração severa e alterações miofibrilares em níveis mais elevados de pressão. Proteínas sarcoplasmáticas, que provaram que desempenham um papel importante na propriedades de ligação da água no músculo de carne fresca (Joo et al., 1999; Monin & Laborde, 1985) também podem estar relacionada à diminuição da perda por cozimento devido a APH. Nesse sentido, Marcos et al. (2010) encontraram uma correlação negativa entre a solubilidade da proteína sarcoplasmático e umidade exprimível em carne bovina (*Longissimus dorsi*), sugerindo que desnaturação de proteínas sarcoplasmáticas induzida por pressão pode influenciar negativamente alguma medida de ligação da água em carnes pressurizadas.

## 2.9 Índice de Fragmentação Miofibrilar

Durante o período *post mortem*, numerosas modificações ocorrem na estrutura do músculo esquelético, algumas das quais resultando em perda da integridade dos tecidos, que é

traduzida em melhoria na maciez das carnes. Segundo Koohmaraie et al. (1996), essas modificações incluem:

- O enfraquecimento e/ou degradação do disco Z, provocando fragmentação de miofibrilas;
- A degradação da desmina, que interliga os discos Z transversalmente, e estes à membrana plasmática, leva à fragmentação de miofibrilas, provavelmente devido a rupturas de ligações transversas;
- Degradação da titina, que conecta filamentos de miosina, ao longo de sua extensão, da linha M ao disco Z. A degradação da titina pode provocar o enfraquecimento ou a redução da resistência das miofibrilas, melhorando, assim, a maciez da carne;
- A degradação da nebulina, que devido à sua localização, na banda I, entretanto não há muita certeza o quanto isso pode influenciar na maciez das carnes. A nebulina atua como suporte para a deposição de filamentos finos de actina e ancoragem no disco Z (DELGADO, 2001);
- O desaparecimento da troponina- T e o simultâneo aparecimento de vários polipeptídios de peso molecular de 14 a 32kDa. Segundo Koohmaraie (1992), esta é a mais observada e relatada modificação que ocorre durante o período *post mortem*. Entretanto, por causa da localização da troponina-T nas miofibrilas, também na banda I, é pouco provável que a degradação desta proteína por si só possa ter algum efeito direto na maciez. Mas esta modificação pode ser um bom indicador da extensão da proteólise *post mortem*;
- O aparecimento de polipeptídios com alto peso molecular de 95 kDa que, conforme citação de DELGADO (2001), pode ser de 95 a 300 kDa, e que provavelmente sejam provenientes da degradação da titina ou nebulina entretanto esta presença não está bem clara quanto seu significado na maciez das carnes;
- Outra importante observação é que as principais proteínas contráteis, miosina e actina, não são afetadas pelo processo de ação enzimática;

Em trabalho realizado por Taylor et al. (1995) foi observado que a degradação das ligações intermiofibrilares e os costâmeros, estruturas que ligam as miofibrilas ao sarcolema, e o enfraquecimento da interação filamentos finos/disco Z, têm papel fundamental no processo de amaciamento muscular no período *post mortem*. Entretanto, os autores concluíram que a degradação do disco Z não ocorre com intensidade significativa durante os primeiros três ou quatro dias *post mortem*, quando se dá boa parte do amaciamento da carne.

Uma indicação da degradação das proteínas miofibrilares durante o período *post mortem* pode ser obtida pela determinação da extensão da fragmentação miofibrilar, quando a carne é submetida à homogeneização (HOPIKINS & THOMPSON, 2001). A análise, conhecida como índice de Fragmentação Miofibrilar, pode ser realizada rotineiramente em laboratório e está diretamente relacionada à maciez das carnes (KOOHMARAIE et al., 1996). Este índice mede o tamanho médio das miofibrilas, ou seja, miofibrilas mais curtas resultam em maiores valores para o índice de Fragmentação Miofibrilar, que é geralmente relacionado com maior maciez das carnes (TAYLOR et al., 1995). Teoricamente, o enfraquecimento e/ou degradação dos discos Z e a degradação da desmina e, provavelmente, da titina, são responsáveis pelo aumento da fragilidade das miofibrilas durante o período *post mortem* (KOOHMARAIE, 1992).

Suzuki et al. (1990) trabalhando com carne bovina pressurizada (100-300 MPa, a 5 minutos) obteve o grau de fragmentação das miofibrilas expresso em percentagem do número

de fragmentos miofibrilares composto por 1-4 sarcômeros e o número total de miofibrilas. O grau de fragmentação, que foi inferior a 10% na carne não tratada, foi acelerada pela pressurização e atingiu mais de 30%, 70%, 80% e 90% a 100, 150, 200 e 300 MPa, respectivamente. O grau de fragmentação, 80% a 90%, está acima do nível máximo da fragmentação das miofibrilas naturalmente obtidas na maturação convencional.

Os efeitos da alta pressão sobre a estrutura miofibrilar do carne bovina *post rigor* foram caracterizados por Suzuki et al. (1990). No preparado de miofibrilas obtidos da carne pressurizada a 100 MPa, uma contração do sarcômero foi observadas, e a diferença de densidade entre a A banda e a banda I tornou-se indistinguíveis em relação ao controle (sem tratamento). A ruptura da estrutura filamentosa da banda-I e uma perda do material na linha-M foram observadas nas miofibrilas do músculo pressurizado a 150 MPa. Nas miofibrilas da carne pressurizada a 200 MPa, a continuidade estrutural do sarcômero foi quase completamente perdida, com trincas nos filamentos A e I distribuídas ao longo do sarcômero. A Perda total da linha- M- e o espessamento da linha Z, provavelmente devido ao colapso do filamento-I, foram observados. A clivagem da banda-A, além de muitas alterações já mencionadas foi observado nas miofibrilas da carne pressurizada a 300 MPa. O comprimento do sarcômero, inicialmente contraído pela pressurização a 100 MPa, parecia ter recuperado gradualmente com o aumento da pressão, devido à crescente perda de continuidade estrutural. A fragmentação das miofibrilas durante a maturação é derivada da ruptura das miofibrilas na linha-Z, enquanto que a linha-Z na miofibrilas fragmentadas da carne pressurizada aparentemente permaneceu intacta.

## 2.10 Análise do Perfil de Proteínas por Eletroforese

Resultados interessantes vêm sendo obtidos utilizando géis de eletroforese unidimensionais (1DE) em análises de proteínas musculares em busca de marcadores para maciez (MULLEN, 2006).

Proteínas são formadas por uma sequência definida de aminoácidos e, quando expostas a condições de alta temperatura, pH extremo, altas pressões hidrostáticas, podem desenovelar-se e perder parcial ou totalmente sua estrutura e função. Segundo Palmieri (2005), a pressão hidrostática age ao forçar a entrada de água no cerne proteico, o que resulta na quebra das interações fracas e, conseqüentemente, no desenovelamento proteico.

Nas décadas de 60 e 70, a APH passou a ser utilizada mais extensamente ao estudo de proteínas e a desnaturação reversível por APH foi observada para várias proteínas monoméricas, como a ribonuclease A e a mioglobina, e desde então a APH tem sido usada como uma ferramenta capaz de dissociar diversas proteínas (FOGUEL, 1993).

Vários estudos bioquímicos sugerem que pressões acima de 200 MPa geralmente causam, em temperatura ambiente: a dissociação de estruturas oligoméricas em suas sub-unidades; abertura parcial e deconformação das estruturas monoméricas (em muitos casos irreversíveis); e a e gelatinização das proteínas, sempre que a pressão e a concentração de proteínas sejam altamente suficientes (CHEFTEL & CURIOLI, 1997; HEREMANS & SMELLER, 1997).

Quando expostas às condições de alta temperatura, pH extremos, APH, etc., as proteínas podem desenovelar-se e perderem parcialmente sua estrutura e ação. A APH age ao forçar a entrada de água no cerne proteico, o que resulta na quebra das interações fracas e, conseqüentemente, o desenovelamento proteico (CREIGHTON, 1987).

Estudos recentes foram realizados para verificar as mudanças na actina, miosina e actomiosina depois do tratamento com alta pressão. 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).

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 do volume ocupado pela molécula, e este fenômeno leva ao enfraquecimento de interações iônicas e hidrofóbicas, tanto entre complexos proteicos quanto na estrutura da própria proteína.

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 à distância mínima entre os átomos. Este fato explica porque a forma nativa das proteínas ocupa um volume maior do que o estado desenovelado. Desta forma, de acordo com o princípio de *Le Chatelier*, a aplicação de pressão desloca o equilíbrio no sentido da diminuição do volume, ou seja, passa para o estado dissociado.

A hipótese mais aceita para explicar porque as altas pressões favorecem a dissociação de proteínas pressupõe também 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 (FOGUEL, 1993).

Quando a proteína se desenovela, o sistema proteína-solvente sofre contração de volume devido ao empacotamento dos resíduos de aminoácidos pela molécula do solvente. Dessa forma, o que se supõe é que, sob pressão, a água infiltra na proteína, onde as ligações fracas são desestabilizadas (FOGUEL, 1993).

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 à pressão e a composição deste.

Scheibenzuber et al. (2002), em pesquisas realizadas com carne de porco, usaram a eletroforese SDS-PAGE para verificar as alterações nas proteínas miofibrilares deste produto após tratamento a diferentes 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.

De acordo com Jimenez-Colmenero et al. (1998), o aquecimento sob pressão favoreceu a quebra da cadeia de proteína que foi atribuída a uma quebra enzimática acelerada pela pressão de um componente de peso molecular mais alto (possivelmente a miosina). Estes autores afirmaram, ainda, que a diminuição da atividade das proteases nas proteínas da carne foi devido à alta pressão aplicada, levando à quebra das proteínas miofibrilares.

Yamamoto et al. (1992) realizaram estudos relacionados com a agregação de proteínas cárneas, quando submetidas às altas pressões. Verificaram que as moléculas de miosina não pressurizadas apresentaram-se como monômeros e, tipicamente, apresentaram duas cabeças. Compararam estas características 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 uma interação entre extremidades para formar oligômeros. Com o aumento da pressão, os grupamentos se compactaram e aumentaram de tamanho. Mesmo depois da aplicação de 210 MPa por 5 minutos, moléculas de miosina monoméricas foram ainda observadas, apesar da proporção de moléculas de miosina com apenas uma extremidade ter aumentado. Verificaram que tratamentos de até 210 MPa não induziram à geleificação, e que o tratamento térmico da solução puramente pressurizada resultou em um gel com rigidez e microestrutura similar ao formado somente com o tratamento térmico. Desta maneira, os autores constataram que o tratamento com pressão, provavelmente, não afetou a estrutura

helicoidal original da cauda de monômeros da miosina.

Sabe-se que as proteínas miofibrilares representam 52-56% de toda a proteína muscular das carnes. A miosina é a proteína mais abundante das proteínas miofibrilares, correspondendo a cerca de 50-58% do total das proteínas miofibrilares. A actina constitui de 15 a 20% das proteínas miofibrilares.

Vários autores também verificaram clareamento nas bandas de actina e miosina em produtos cárneos submetidos a alta pressão através da eletroforese SDS-PAPGE. Scheibenzuber et al. (2002), em pesquisas realizadas com carne de porco, usaram a eletroforese SDS-PAGE para verificar as alterações nas proteínas miofibrilares deste produto após tratamento a diferentes pressões. Estes autores concluíram que a alta pressão induziu a solubilização das proteínas miofibrilares, levando à gelatinização das miofibrilas. Verificaram, também, que componentes de filamentos finos foram solubilizados facilmente com aplicação de pressão, contudo, a solubilização da miosina dependeu da magnitude e da duração da pressão aplicada.

As frações proteicas consideradas mais importantes no processo de amaciamento por maturação da carne bovina durante o resfriamento são: Nebulina (Nb), Cadeia pesada da miosina (MHC), produtos de degradação de aproximadamente 110 a 150 kDa, alfa-actina ( $\alpha$ -actina), Troponina-T (TN-T), Fragmento de aproximadamente 30kDa, produto da degradação da troponina, cadeias leves da miosina e Troponina-I (TN-I).

Algumas proteínas componentes da miofibrila mudam durante o *post-mortem* dos animais, incluindo a Tinina, Nebulina e a Troponina, resultando muitas vezes no desaparecimento de determinadas frações das proteínas ou o aparecimento de produtos de degradação, como é o caso do aparecimento de uma banda de aproximadamente 30 kDa à medida que se aumenta o tempo de maturação da carne (NEGISH et.al., 1996).

A proteólise da proteína miofibrilar troponina T e subsequente aparecimento da banda de 30 kDa vem sendo reportada como um bom indicador de proteólise e de um preditor para maciez da carne (KOOHMARAIE, 1992).

Em trabalho realizado por Whipple et al. (1990) com músculos *Longissimus dorsi* e *Semitendinosus* de bovinos Hereford x Angus e de seus cruzados com animais da raça Sahiwal (3/8 e 5/8 S), foi observado que a carne de bovinos 5/8S é mais dura que a de 3/8 S, mesmo após 14 dias de maturação. A proteólise miofibrilar, observada por eletroforese de proteínas, foi reduzida para este grupo genético. A desmina, do citoesqueleto das células musculares da carne de novilhos 5/8 S permaneceu inalterada e a banda de aproximadamente 30 kDa (produto de degradação na proteólise) não apareceu para este grupo, após a maturação. O mesmo foi observado no *Longissimus* de bovinos Brahman por Wheeler et al. (1990).

Yokota et al. (2008), trabalhando com animais Nelore e 1/2 Nelore x a Aberdeen Angus observaram pequena diminuição de determinadas frações proteicas e aparecimento de outras, denominadas produtos de degradação, à medida que o tempo de maturação da carne foi aumentado, independente do grupo genético. Não foram observadas mudanças na quantidade das principais proteínas contráteis actina e miosina entre grupos genéticos e tempos de maturação. Assim como observado por outros autores, essas proteínas parecem não sofrer degradação *post-mortem* à 4° C até após 56 dias de maturação, sugerindo-se que a falta de proteólise da Miosina foi parcialmente devido à baixa atividade enzimática à temperaturas de refrigeração (BANDMAN & ZDANIS, 1988).

De acordo com Kolczak et. al. (2003), durante 12 dias de maturação da carne o comprimento do sarcômero aumentou, principalmente devido ao alargamento das bandas-I e também algumas mudanças na banda-A. Não foram observadas diferenças significativas quanto ao conteúdo da Troponina T, ao longo do tempo de maturação em nenhum dos grupos

genéticos, entretanto, observa-se que conforme aumentou o tempo de maturação, o conteúdo da Troponina T diminui e que devido à degradação da Troponina T, apareceram polipeptídeos de aproximadamente 30 kDa. A degradação da Troponina T durante a maturação dos músculos tem sido associada com a melhora na maciez, como tem sido documentado e observado em vários músculos independentemente da espécie animal. Sendo possível que essa degradação possa estar relacionada às mudanças estruturais tais como o alargamento da banda I, assim como encurtamento das miofibrilas do sarcômero, o qual é encontrado em observações microscópicas (NEGISH et al., 1996).

## 2.11 Perfil de Ácidos Graxos

Enquanto a composição química dos músculos é relativamente constante (70 a 75% água, 19 a 25% proteínas, 3 a 5% de lipídios e 1 a 2% minerais e carboidratos), a composição química da carne é altamente variável, em especial quanto aos lipídeos. De modo geral, a natureza e a quantidade dos lipídeos armazenados no músculo são dependentes das condições de alimentação, da digestão, da absorção intestinal, do metabolismo hepático e do sistema de transporte desses lipídeos. De acordo com pesquisas, a composição lipídica no organismo de um animal varia em relação à espécie e alimentação a que o mesmo é submetido. Ainda, a composição pode variar em função da idade do animal, em geral, ocorrendo um aumento, à medida que o animal envelhece. A maior diferença na composição dos lipídeos é entre ruminantes e não ruminantes, visto que não ruminantes tendem a depositar lipídeos na forma em que está na dieta, enquanto no rúmen há microrganismos que, por meio da biohidrogenação, podem alterar a composição lipídica da dieta (GEAY et al., 2001).

Muitos estudos constataram que ácidos graxos insaturados (AGI) possuem importante função no sabor e aroma da carne. Contudo, o aumento destas proporções pode reduzir a estabilidade oxidativa da gordura, favorecendo a oxidação e deterioração da carne, por meio da rancificação das gorduras. Willians (1994) concluiu que o consumo de dietas ricas em grãos aumentou a porcentagem de triacilglicerol, alterou o perfil de AG, aumentou o ácido oléico e a quantidade de ácido monoinsaturado.

A gordura intramuscular é composta por aproximadamente 20 ácidos graxos (AG), seis correspondem a 92% do total (oléico, palmítico, esteárico, linoléico, palmitoléico e mirístico). Em geral, a composição de AG da gordura intramuscular da carne bovina é cerca de 40% de saturados, 5% de cadeia ímpar, 45% de monoinsaturados e 10% de poliinsaturados. Kris-Etherton et al. (2001) verificaram que o ácido mirístico é o AG saturado mais relacionado a presença de altos níveis de colesterol no sangue, por outro lado, o ácido esteárico parece ser o único neutro, não elevando tal índice.

Os ácidos graxos são a base de lipídios naturais, normalmente com número par de átomos de carbono, podendo ser saturados ou insaturados. Os mais distribuídos na natureza são o palmítico, esteárico, palmitoléico e oléico. Os triglicerídios animais têm grande proporção de ésteres de ácidos graxos saturados, tais como o palmítico e esteárico, enquanto os triglicerídios vegetais apresentam grande proporção de ésteres de ácidos graxos insaturados, como o oléico, linoléico e linolênico. A dieta, contendo uma proporção maior de ácidos graxos poliinsaturados versus saturados, leva a redução do nível de colesterol sérico, que está relacionado com a incidência de arteriosclerose (SANTOS et al., 1999).

Tem-se dado muita atenção em relação à presença de ácidos graxos trans nas dietas. Ácidos graxos trans, embora sejam insaturados, elevam as concentrações de colesterol indesejável LDL e reduzem os teores de colesterol desejável HDL. Em consequência, instituições americanas recomendam que a ingestão desse ácido deva ser baixa, como parte de uma dieta saudável.

Sabe-se que a principal fonte desse ácido graxo trans são gorduras hidrogenadas. Ainda, bolachas tipo "crackers" e doces, como chocolates, assim como batatas fritas, apresentam elevados teores de ácidos graxos nessa forma. Em contrapartida, a concentração de ácidos graxos trans é baixa em carne bovina.

Putrino (2006) analisado o perfil de ácidos graxos nos cortes cárneos, observou que as quantidades do isômero cis-9 trans-11 octadecadienóico (CLA), identificado como anticarcinogênico, estavam ao redor de 5 mg/g, consideradas dentro do intervalo entre 3 e 7 mg/g, citado por Kelly et al. (1998) para a carne e leite de ruminantes. Kelly et al. (1998) observaram, também, que o corte da paleta apresentou maiores quantidades de ácido esteárico, considerado neutro, pois embora seja saturado, não tem efeito prejudicial ao sistema cardiovascular sendo, após o consumo, convertido no fígado humano a ácido oléico (monoinsaturado). Portanto, ao contrário do que a maioria dos consumidores pensa, apenas um terço dos ácidos graxos da carne bovina eleva os níveis de colesterol, pois mesmo os ácidos graxos saturados, que correspondem a 45% do total de gordura, não são hipercolesterolêmicos.

No lúmen do intestino delgado, os triacilgliceróis provenientes dos alimentos são degradados a ácidos graxos livres e monoacilgliceróis, na presença de ácidos biliares conjugados e lipase pancreática, que formam micelas. Os ácidos biliares não são absorvidos pela via linfática, mas sim absorvidos através do sangue portal conduzidos para o fígado, sendo reciclados para o lúmen através da vesícula biliar. Os ácidos graxos livres, os monoacilgliceróis e os triacilgliceróis restantes são absorvidos como micelas para as células epiteliais do intestino delgado, onde são re-sintetizados. Os triacilgliceróis, fosfolipídios e proteínas específicos recém-sintetizados e o colesterol da dieta combinam-se no retículo endoplasmático das células epiteliais e são excretados nos vasos linfáticos do intestino como quilomicrons. Os quilomicrons, que contêm 0,2 a 0,5% de proteínas, 6 a 10% de fosfolipídeos, 2 a 3% de colesterol mais ésteres de colesterol e 80 a 90% de triacilgliceróis, passam para o sistema linfático e para o duto torácico para serem descarregados no sistema sanguíneo, sendo a maior parte transportada para o tecido adiposo para reserva de gordura. Os quilomicrons são degradados a ácidos graxos nos leitos capilares antes de alcançar os tecidos alvos, e transportados posteriormente para os tecidos adiposo e muscular, fígado e coração (CONN & STUMPF, 1980).

As gorduras influenciam no sabor e aroma, pela composição dos AG, que determinam a natureza dos compostos produzidos pela oxidação, no cozimento da carne. Os AG saturados resistem à oxidação em baixas temperaturas, ao contrário dos AG polinsaturados, que podem oxidar e degradar-se em altas temperaturas. A oxidação dos AG polinsaturados, em baixas temperaturas, consiste no maior processo de degradação, induzindo a rancificação da carne crua. Pode ocorrer também, durante o cozimento, a produção de vários compostos voláteis, tais como aldeídos, interferindo no sabor e no aroma da carne, pela reação de Maillard, com produção de aroma e coloração indesejável (GEAY et al., 2001). Os mesmos autores afirmaram também que produtos da degradação da gordura (aldeídos e cetonas) são mais aparentes na fração volátil da carne de animais tratados com capim, quando comparados àqueles alimentados com grãos.

Ma & Ledward (2004) relataram aumento de valores de TBARS em carne bovina (*Longissimus dorsi*) tratada com pressões iguais ou maiores a 400 Mpa, a 20 e 40°C. Esses resultados confirmam aqueles verificados em estudos anteriores, e demonstram que a pressões elevadas ( $\geq 400$  Mpa) o processamento provoca redução da estabilidade oxidativa da carne (Cheah & Ledward, 1996).

McArdle et al. (2010), considerando efeitos combinados de alta pressão (200 a 400MPa) e temperatura (20°C e 40°C) na carne bovina (*Pectoralis profundus*) observaram

aumento nos valores de TBARS nas pressões mais elevadas (300 e 400 MPa). Apesar de tais alterações, não foram verificadas variações na relação ácidos graxos poliinsaturados/saturados (AGPI/AGS) ou omega-6/omega-3. Conjuntamente, esses resultados demonstram que tratamentos com pressões moderadas (200 MPa) afetam minimamente os parâmetros de qualidade da carne.

## 2.12 Análise Sensorial

A análise sensorial pode ser definida como uma técnica científica utilizada para evocar, medir e analisar as características dos alimentos, como são percebidas pelos órgãos dos sentidos. É considerada subjetiva, por depender das percepções causadas por estímulos captados pelos órgãos dos sentidos, capacidade de julgamento do analista, sendo a resposta influenciada por fatores externos de avaliação, como o estado emocional e de saúde do provador, assim como ações anteriores próximas ao momento da análise (ABNT, 1993).

Segundo Freitas (2005), embora a análise sensorial apresente fundamentos que a fazem merecer classificação de ciência, também deve ser considerada como tecnologia devido a sua grande utilização prática. Ao contrário do que ocorre normalmente, a tecnologia originou-se a partir de preceitos científicos e, no caso da análise sensorial, a ciência evoluiu a partir da necessidade de formulação de novas técnicas para solucionarem inúmeros questionamentos existentes, muito antes do embasamento científico.

Segundo Della Modesta (1994) a avaliação sensorial foi desenvolvida durante a 2ª Guerra Mundial na tentativa de elucidar as razões pelas quais as tropas rejeitavam um grande volume de ração da campanha. O fato não era compreendido, pois as dietas estavam perfeitamente balanceadas e atendiam as necessidades nutricionais dos soldados. Para descobrir o motivo dessa rejeição foram realizadas entrevistas que, após análise detalhada, permitiram concluir que o motivo era a deterioração, em diferentes graus, de algumas ou todas as características sensoriais ou atributos de qualidade. Como resultado, foram postuladas hipóteses para determinar as causas dessas alterações, originadas na própria matéria-prima, durante o processamento, enlatamento ou armazenamento.

Os métodos sensoriais podem ser classificados em: teste analítico: 1) teste de diferença (teste de escolha forçada, teste de comparação múltipla, sensibilidade, ordenação, grau de diferença); teste descritivo (perfil de sabor, perfil de textura, análise descritiva quantitativa), análise espectrum, técnica tempo intensidade, avaliação de atributos; 2) teste de aceitação e de consumidor: teste de preferência (preferência pareada, ordenação de preferência, pareado múltiplo ou ordenação múltipla); teste de aceitação, escala hedônica escala de ideal, escala de atributo, diagnóstico e de escalas de intensidade e hedônica (IFT, 1995).

Segundo Oliveira (2010), existem dois tipos de provadores/julgadores para realizar análise sensorial: os não treinados e os treinados. Nos testes analíticos o provador é utilizado como um instrumento, portanto há necessidade de treiná-los. Porém, não se deve utilizar um provador treinado para realização de métodos afetivos.

As equipes de provadores treinados devem ser compostas de 6 a 20 julgadores, com alta acuidade e capacidade de discriminação. Antes de serem treinados são selecionados com base na acuidade sensorial, usados para testes de pequenas diferenças, para medir a intensidade da característica e para análise descritiva. Não se devem utilizar estas pessoas para testes afetivos que devem ser feitos com consumidor. São treinados para medir diferenças e não preferências (OLIVEIRA, 2010)

Dentro dos provadores não treinados existem duas classificações, a primeira de equipe de aceitação de laboratório ou equipe de laboratório não treinada que composta por 25 a 50 pessoas, preferencialmente devem ter mais de 50 pessoas. Podendo ser pessoas que trabalhem

na instituição, desde que estas pessoas não sejam treinadas. Deve-se ter cuidado com o erro de indulgência. Essa equipe é mais fácil de ser organizada e controlada do que a de consumidores. Usada para testes de preferência e aceitação. Já a segunda é o testes de consumidor, que exigem um grande número de provadores (200 a 500 pessoas). Não são treinadas, mede a atitude, opinião. Preferência/aceitação. Gostar/desgostar (OLIVEIRA, 2010)

A fim de reunir informações sobre como os consumidores percebem os sentidos e características de um produto alimentar, estudos sobre o consumidor geralmente incluem perguntas sobre as características sensoriais do produto (Meilgaard et al. 1991). Escalas relativa ao ideal “Justt-about- right” (JAR) e questões sobre atributos são algumas das mais utilizadas técnicas para obter informações dos consumidores sobre a percepção sensorial do atributos de um produto (POPPER et al. 2004). Outra alternativa é o uso da técnica marque tudo que se aplica “check all that apply” (CATA). Uma pergunta CATA consiste de uma lista de palavras ou frases que considerem adequadas para descrever um produto. Este tipo de perguntas têm sido utilizados em estudos de mercado para determinar quais os atributos sensoriais os consumidores esperam encontrar em um produto alimentar (ADAMS et al 2007; MEULLENET et al., 2008). As perguntas do CATA parecem fáceis de serem utilizadas pelos consumidores e têm sido relatados para ter um efeito menor sobre a percepção do consumidor, do que as escalas JAR ou intensidade (ADAMS et al. 2007). Um dos principais temas de questões CATA é a geração de prazo, resultados desta metodologia dependem da adequação dos termos selecionados. A geração de termos para CATA poderia ser feito de várias maneiras. Segundo Dooley et al. (2010), os termos podem ser gerados por avaliadores de painéis treinados, ou pelos consumidores que irão testar o produto (por exemplo, um grupo de foco). No entanto, não foi realizada pesquisa para estudar como a seleção de termos CATA pode afetar os resultados desta metodologia (CASEY & KRUEGER, 1994).

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Animais e Cortes Primários

Foram utilizados animais Nelore, castrados, com idade morfológicas de 1ª dentição, criados em regime de campo, alimentados exclusivamente de *Brachiaria decumbens* e suplementados com sal mineral e sal comum. Esses animais foram abatidos no matadouro Ferreira Landin (SIE), no município de Valença-RJ. Após resfriados, os cortes serrotes foram encaminhados ao frigorífico ITAMIX – Distribuidora de Comestíveis Ltda – Itaguaí – RJ, onde realizou-se a desossa.

Segundo o Ministério da Agricultura, no Brasil a carcaça é separada em duas meias carcaças e esta em quartos, sendo divididas entre a 5ª e 6ª vértebras torácicas em quarto dianteiro e traseiro. A partir desses cortes obtêm-se do quarto traseiro o traseiro serrote e a ponta de agulha. O corte serrote é obtido pela incisão que se inicia na extremidade posterior do matambre (músculo cutâneo toráco-abdominal), junto ao gânglio linfático pré-crural, atinge a ponta da anca (tuberosidade ilíaca), seguindo em linha reta até a sexta costela (primeira do traseiro-serrote), a uma distância não superior a 4cm da borda lateral da porção muscular do contra-filé. O traseiro serrote ou traseiro especial é subdividido em 3 grandes peças: lombo, alcatra e coxão e nestes estão as carnes mais nobres do bovino ou carnes de 1ª. Por sua vez o lombo se subdivide em: contrafilé, capa de filé e filé mignon, onde no contra filé sua maior porção muscular se denomina *Longissimus dorsi*, sendo esse grupo muscular o mais utilizado para realização de análises quantitativas e qualitativas da carne.

Para o estudo da avaliação do efeito de diferentes níveis de alta pressão sobre a textura e as demais características da carne, utilizou-se os cortes serrotes de 09 animais. Para a avaliação comparativa do efeito da alta pressão com a maturação convencional, foram utilizados cortes serrotes de 15 animais.

### 3.2 Processamento da Carne

#### 3.2.1 Preparo das amostra

As carcaças foram resfriadas a 15°C por 24 horas e após o resfriamento industrial e obtenção dos cortes primários, estes foram desossados em sala climatizada a 12°C, obtendo-se os cortes comerciais. Em ambos os ensaios, na obtenção do corte serrote antes da desossa, foi medido o pH e a temperatura, utilizando-se de pHmetro digital (PH-MV-TEMP Meter-206, LUTRON) inserido na altura do músculo *semitendinosus*, para confirmação do estabelecimento adequado do processo de *rigor mortis*.

Em seguida a desossa, retirou-se os contra filés (*Longissimus dorsi*) em peças inteiras. No ensaio concernente a avaliação do efeito de diferentes níveis de pressão sobre a textura e outras características da carne, retirou-se apenas a porção compreendendo entre a 10ª e a 12ª costelas identificadas no sentido caldo-cranial (MULLER, 1980), a qual posteriormente foi cortada em bifés de 2,5 cm de espessura, que logo em seguida foram embalados em sacos de polietileno poliamida e fechados a vácuo. A amostra controle foi identificada e congelada, e as demais amostras encaminhadas para pressurização. No ensaio para avaliação comparativa da alta pressão com a maturação convencional, as amostras foram processadas de modo a retirar-se a porção compreendendo da 8ª a 12ª costelas, e estas foram identificadas no sentido caldo-cranial. As amostras controle (carne *in natura*) foram também cortadas em bifés de 2,5

cm de espessura embaladas a vácuo e congeladas.

Efetuiu-se congelamento pelo sistema de ar parado, com a temperatura da câmara controlada entre -10 e -32°C. Este procedimento metodológico foi aplicado com função de interromper a atividade microbiana, reduzir as atividades das reações químicas e enzimáticas; reduzir alterações nos atributos de qualidade e conservar a carne, de modo geral. As carnes, após processadas (alta pressão e maturada), também foram congeladas pelo mesmo método, até a realização das análises laboratoriais.

### **3.2.2 Maturação convencional**

A maturação foi realizada com a carne embalada a vácuo, mantendo-se a temperatura de 2°C em câmara de BOD no Laboratório de Análise de Alimentos e Bebidas – LAAB - UFRRJ, por 14 (quatorze) dias.

### **3.2.3 Alta pressão hidrostática**

Para a avaliação do efeito de diferentes níveis de pressão de processo sobre a textura e outras características da carne, as amostras foram pressurizadas a 100, 200, 300 e 400 MPa e foram respeitados os devidos tempos de pressurização conforme delineamento experimental, enquanto que no ensaio para avaliação comparativa da alta pressão com a maturação convencional, as amostras foram retiradas tão logo atingiram a pressão de 200 MPa. O equipamento de alta pressão hidrostática utilizado é um modelo laboratorial (marca *Stansted Fluid Power* e modelo S-FL-850-9-W), localizado na EMBRAPA Agroindústria de Alimentos. Este equipamento possui capacidade para operar em uma faixa de pressão de 100 a 900 MPa, em temperaturas variando de 0 a 80°C, e intervalos de tempos variados. O equipamento foi controlado através de um painel para o ajuste da pressão, tempo e temperatura desejados, de acordo com o planejamento experimental. Posteriormente, as amostras foram colocadas em cilindro destinado a inserção de amostras dentro do vaso de pressão, de aço inoxidável, com espaço útil de aproximadamente 7,0 cm de diâmetro e 20,0 cm de comprimento, e possuindo vários orifícios na parede, por onde circula o líquido pressurizador, neste caso álcool 70%.

A câmara de pressurização, contendo o cilindro, foi hermeticamente fechada e vedada para evitar vazamentos. Primeiramente, uma bomba pneumática foi acionada na câmara, injetando uma pré-carga até que os selos da mesma se fechassem. Posteriormente, foi acionada automaticamente, uma segunda bomba hidráulica que deslocou um pistão e elevou a pressão até a condição de trabalho desejada caracterizando, assim, dois estágios de pressurização.

O equipamento opera a uma taxa de pressurização de 7 MPa/s até a pressão desejada. No decorrer do processo, pequenas elevações de temperatura podem ocorrer devido a temperatura ser diretamente proporcional à pressão, havendo um aumento em torno de 3°C a cada 100MPa. Por isso, as amostras pressurizadas entraram com a temperatura de aproximadamente 5°C, evitando um possível pré cozimento indesejável da carne, visto que trabalhou-se com carne *in natura*. Ao término do ciclo, após a despressurização, a câmara foi aberta e as amostras pressurizadas foram retiradas do cilindro e enviadas para congelamento, aguardando, assim, as respectivas análises laboratoriais.

### **3.3 Métodos Analíticos Laboratoriais**

As análises laboratoriais foram realizadas na EMBRAPA Agroindústria de Alimentos

– RJ e no LAAB – Laboratório de Análises de Alimentos e Bebidas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ. Para todas as análises, as amostras foram descongelados à 6°C, por 24 horas, a partir no dia anterior à análise.

### **3.3.1 Força de cisalhamento e perdas de peso por cozimento**

Para realização da análise de textura por força de cisalhamento, foram utilizados cinco bifes de aproximadamente 2,5 cm de espessura. Os bifes foram assados em “grill” elétrico, dotado de chapas aquecedoras onduladas nas partes superior e inferior. O “grill” foi previamente aquecido com a tampa abaixada e regulado para que a temperatura se mantivesse em 170°C. Cada bife foi pesado e acondicionado sobre a chapa inferior do “grill”, que foi 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 na região central do bife. Após retirar os bifes do “grill”, os mesmos foram pesados, calculando-se assim as perdas de peso por cozimento. Após atingirem a temperatura ambiente, os bifes foram embalados em sacos plásticos, devidamente identificados, e levados ao refrigerador à temperatura de 4°C, por um período de 24 horas (AMSA, 1995). Seis cilindros de 1,25 cm de diâmetro por bife foram retirados paralelamente ao sentido longitudinal das fibras musculares. A determinação da força de cisalhamento foi realizada por meio de um texturômetro marca TA-HDi (Texture Technologies Corp./ Stable Micro Systems, UK), equipado com lâmina de Warner-Bratzler, de 1 mm de espessura.

O equipamento foi calibrado com um peso de 50kg com padrão rastreável. A velocidade de subida e descida da lâmina foi fixada em 200 mm/min (AMSA, 1995) e a distância da mesma à plataforma em 25,0 mm. Cada cilindro foi cortado uma única vez e o resultado expresso em Kgf. Tendo sido realizadas 6 análises por amostra.

### **3.3.2 Cor e índice de fragmentação miofibrilar**

A cor do músculo foi analisada pelo 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). Cinco bifes, de animais diferentes, por tratamento foram descongelados por um período de 24 horas, à temperatura de 6°C, e foram realizadas 6 (seis observações) por bife e por tratamento, totalizando então 30 observações por tratamento.

O método da turbidez empregado para determinação do índice de fragmentação miofibrilar é um procedimento mais complexo que o método microscópico, mas possui a vantagem de ser mais rápido, permitindo a análise de maior número de amostras em um período menor, e eliminando erros e variações entre amostras decorrentes de eventuais procedimentos não padronizados. É, atualmente, a técnica mais usada na análise da fragmentação das proteínas miofibrilares.

O princípio da análise também baseia-se na fragmentação das miofibrilas durante a homogeneização, como no caso do método microscópico. Neste método, no entanto, os fragmentos são separados por filtração e centrifugação, ressuspensos em tampão, de forma que a concentração de proteínas se encontre num determinado valor de referência e, finalmente, feita a leitura a 540 nm para a avaliação da turbidez da solução.

Uma vez que a concentração proteica da solução sempre é levada a um valor constante antes da leitura da densidade ótica, quanto maior o número de fragmentos miofibrilares em solução, maior a turbidez e, conseqüentemente, maior a maciez esperada da carne avaliada.

O protocolo de análise descrito a seguir baseia-se na metodologia proposta por Davey e Gilbert (1969), com modificações sugeridas por Olson et al. (1976), Culler et al. (1978) e Koohmaraie (2002).

Os principais equipamentos utilizados foram o espectrofotômetro para leitura na região do visível (540 nm), homogeneizadora de tecido (tritador tipo vórtex), balança analítica centrífuga refrigerada (4° C), peneira de polieteno (18 mesh) e potenciômetro (peagômetro).

Para cada tratamento foram retiradas 5 porções de 50g referentes a cinco amostras de carnes diferentes, obtida sem gordura, vasos sanguíneos e tecido conectivo, sendo estas moídas e homogeneizadas. A partir do material homogeneizado, foram separadas três porções de 4g e homogeneizadas em 40 mL de solução-tampão (KCl 100mM; fosfato de potássio 20mM; MgCl<sub>2</sub> 1Mm; Na<sub>3</sub> 1 mM; EDTA 1 mM) refrigeradas (4°C) a uma velocidade de 15.000 rpm (ou na máxima velocidade) por 30 segundos. O homogenato foi centrifugado a 1.000 g por 15 minutos (4°C) e o sobrenadante descartado.

O resíduo e a camada de gordura, se existente, foram ressuspensos em 40 mL da solução tampão, fazendo-se uso de um bastão de vidro. O novo homogenato foi centrifugado a 1.000 g por 15 minutos (4°C) e descartado o sobrenadante.

Foi então resuspensão o resíduo em 10 mL de solução-tampão e homogeneizado (15.000 rpm) por mais 30 segundos. O homogenato foi filtrado em peneira de polietileno (18 mesh), para remover restos de tecido conectivo. O tubo de centrifuga foi lavado com mais de 10 mL de tampão e filtrado na peneira. A concentração de proteína no filtrado foi, então, determinada pelo método de biureto.

Alíquotas do filtrado foram diluídas em tampão fosfato, de forma a se obter uma concentração de proteína igual a 0,5 mg/mL. Para cada tratamento foram retiradas três amostras e estas analisadas em triplicata. A suspensão foi, então, misturada e a densidade ótica imediatamente medida a 540 nm em espectrofotômetro zerado com a solução-tampão. O índice de fragmentação miofibrilar (IFM) foi obtido pela seguinte equação:  $IFM = 200 \cdot A_{540nm}$ . A constante 200 foi usada para trazer os valores de absorvância a 540 nm ( $A_{540}$ ) para uma faixa de 30 a 100, sendo esses denominados IFM. Altos valores IFM (próximos de 100) indicam grande ruptura da estrutura miofibrilar, sendo, portanto, indicativos de músculos macios. Da mesma forma, baixos índices de IFM (próximos de 30) indicam músculos menos macios ou duros.

### 3.3.3 Perfil de proteínas

Para extração de proteínas da carne de bovina foram utilizadas 10g de amostras previamente microprocessadas, sendo utilizadas carnes designadas como T1 (A) congeladas, T2 (B) maturadas e T3 (C) pressurizadas. Posteriormente, esta quantidade de carne microprocessada foi homogeneizada em 30 mL de uma solução extratora, que permite a extração concomitante de proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares. Esta solução tem como composição: 0,065M de Tris-HCl (pH6,8), 3% de dodecil-sulfato de sódio (SDS) e 1% de β-mercaptoetanol (ME). Após a homogeneização durante 2 minutos, as amostras foram centrifugadas durante 15 minutos, sob uma temperatura de 4°C e a uma rotação de 3000rpm.

Aliquota de 3 µL do sobrenadante obtido após a centrifugação foi utilizada para a eletroforese. A eletroforese de proteínas em gel de poli(acrilamida) 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 mediante a construção das curvas padrão, com massas moleculares dos marcadores contra as respectivas distâncias percorridas no gel. Os marcadores de massa molecular foram os da marca BIO-RAD LABORATORIES (Richmond, EUA), sendo os de alto peso molecular: miosina (202,44kDa),  $\beta$ -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).

### 3.3.4 Teor de ácidos graxos (AG)

Inicialmente os lipídios foram extraídos seguindo a metodologia de Bligh & Dyer (1959) apud Cecchi (1999), e foram esterificados seguindo metodologia descrita por Joseph & Ackman (1992).

O teor de AG foi determinado por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução, utilizando-se um cromatógrafo a gás (G 8000 Intecron) equipado com detector por ionização em chama e coluna capilar de polietileno-glicol DB-Wax (30 m; 0,25 mm; 0,25  $\mu$ m).

As amostras controle (*in natura*), maturada e pressurizada foram embaladas a vácuo e divididas em sacos plásticos estéreis (Nasco WHIL-PACK®) de 20 g cada, e analisadas em triplicata.

### 3.3.5 Análise sensorial

A análise das amostras com consumidores foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, o qual dispõe de cabines individuais para teste, controle de iluminação e de temperatura, bem como as demais recomendações citadas por Meilgaard et al. (1991).

As amostras foram avaliadas por 80 consumidores de carne bovina. A avaliação foi em relação ao quanto gostaram das amostras em geral e o quanto gostaram da textura das carnes. Para tais medidas foram utilizadas escalas hedônicas estruturadas de 9-pontos variando de “desgostei extremamente” a “gostei extremamente”. Em seguida avaliou-se as características sensoriais das amostras utilizando-se a metodologia denominada CATA (*Check All That Apply*) (ADAMS et al., 2007; MEULLENET et al., 2008). A ficha de avaliação com os atributos utilizados encontra-se no anexo 2. Tais atributos foram baseados em trabalhos da literatura e são comumente utilizados para descrever carne bovina (SASAKI et al., 2010). Dados demográficos e atitudinais também foram coletados. As fichas utilizadas estão nos anexos 1 e 2.

Cada bife foi pesado (balança Bioprecisa, modelo JH2102) e recebeu aporte de sal na proporção de 5% de seu peso. Essa proporção de sal foi previamente determinada por um grupo de provadores selecionados do Laboratório de Análise Sensorial da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, com objetivo de facilitar a avaliação das amostras pelos consumidores. Após a cocção em forno elétrico até temperatura interna de 72°C controlada por termômetro de haste metálica, os bifos foram aparados para retirada da gordura de cobertura e tecido conjuntivo visíveis, sendo cortados em cubos de 1,5 x 1,5cm. Os cubos foram acondicionados em papel alumínio, identificados e mantidos em forno elétrico (marca

Electrolux) à 95°C. Os consumidores receberam um cubo de carne de cada tratamento e a ordem de apresentação foi balanceada. Foi utilizado pão de forma sem casca e água mineral à temperatura ambiente para limpeza do palato entre as amostras e avaliados conforme anexos 1 e 2.

### 3.4 Tratamentos e Delineamento Experimental

Os tratamentos utilizados para o ensaio para avaliação de diferentes níveis de pressão sobre a textura e outras características da carne foram: 1) controle (carne *in-natura* não processada); 2) alta pressão: foram utilizados no processamento níveis de pressão de 100, 200, 300, e 400 MPa e duas condições de tempo de pressurização: T<sub>1</sub> – condição em que as amostras foram pressurizadas apenas até alcançarem as respectivas pressões requeridas; e T<sub>2</sub> – condição em que as amostras foram pressurizadas por um período de 15 (quinze) minutos após alcançar as pressões requeridas. O delineamento experimental utilizado foi o fatorial completo 2 x 4, no qual foram combinados 2 tempos e 4 pressões. Cujo modelo matemático foi:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + t_j + (P*t)_{ij} + e_{ijk}$$

Onde:

Y<sub>ijk</sub> = o valor da variável testada sob o i-ésimo nível de pressão e j-ésimo de tempo e na repetição k.

μ = Média geral comum a todas as observações

P<sub>i</sub> = efeito do i-ésimo de pressão com  $\sum_{j=1}^4 P_j = 0$ , onde P<sub>1</sub>=100, P<sub>2</sub>= 200, P<sub>3</sub>=300 e P<sub>4</sub>=400;

t<sub>j</sub> = efeito do j-ésimo de tempo de pressurização com  $\sum_{j=1}^2 t_j = 0$ , onde t<sub>1</sub>=0 e t<sub>2</sub>= 15 minutos;

(P\*t)<sub>ij</sub> = a interação entre o efeito do nível de pressão e o tempo de pressão aplicado às amostras.

e<sub>ijk</sub> = erro da parcela que recebeu a pressão i no tempo j na repetição k

Os tratamentos utilizados para o ensaio para a avaliação comparativa do processo de alta pressão e da maturação convencional e outras características da carne foram: 1) controle (carne *in natura*); 2) maturação convencional utilizado-se a condição de 2°C a 14 dias; e 3) alta pressão utilizando-se nível de pressão de 200 MPa, com o tempo de processamento correspondente apenas ao requerido para chegar a esta condição de pressão. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, cujo modelo experimental foi:

$$Y_{ij} = \mu + P_j + e_{ij}$$

Onde:

Y<sub>ij</sub> = o valor da parcela que recebeu o processamento i na repetição j

μ = Média geral

P<sub>j</sub> = efeito do processamento realizado na carne

$E_{ij}$ = Erro da parcela que recebeu o processamento  $i$  na repetição  $j$

No primeiro ensaio o delineamento experimental utilizado foi o fatorial completo  $2 \times 4$ , e os dados submetidos à análise de variância (ANOVA), teste  $t$  de Student e  $F$  a 5% de significância e também analisados por análise de regressão em XLSTAT. No segundo ensaio o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, e os dados submetidos à análise de variância (ANOVA), teste  $t$  de Student e  $F$  a 5% de significância. Para as análises de variância, foram utilizados os procedimentos disponíveis no programa estatístico SISVAR 5.0 (FERREIRA, 2000).

Os dados da preferência (em geral e em relação à textura) foram analisados por ANOVA e também investigada a segmentação dos consumidores utilizando a análise de cluster. Os dados do CATA foram analisados primeiramente pela frequência, ou seja, foi determinada a frequência de cada termo contando o número de consumidores que usaram o respectivo termo para descrever a amostra. Teste Qui-quadrado foi aplicado para checar diferenças entre amostras. A Análise Múltipla de Fatores (MFA) foi utilizada para investigar a relação entre as respostas para as diferentes amostras de carne. A MFA refere-se à análise de fator (*Factor Analysis*) quando os dados são compostos tanto por variáveis quantitativas quanto por tabelas de frequência (PAGÉS, 2005). Todas as análises acima descritas foram realizadas no software XLSTAT.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação do Efeito de Diferentes Níveis de Pressão e Tempo Sobre a Textura e Outras Características da Carne

#### 4.1.1 Efeito de diferentes níveis de pressão e tempo de pressurização sobre a força de cisalhamento

Os resultados obtidos para força de cisalhamento, relacionado a maciez, estão apresentados na Tabela 1. Pode-se observar uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) para valores de força de cisalhamento nas amostras pressurizadas a 100 e 200 MPa, independentemente do tempo de pressurização, obtendo-se redução de até 21,12% em amostras pressurizadas a 200MPa. As amostras pressurizadas a 300 MPa apresentaram valores semelhantes, enquanto as amostras pressurizadas a 400 MPa apresentaram valores superiores, quando comparadas as carnes *in natura*, o que sugere perda de maciez com o aumento da pressão. Foi observado, ainda, ligeiro aumento nos valores de força de cisalhamento com o aumento do tempo de pressurização, nas mesmas condições de pressão, porém não foram encontradas diferenças estatísticas significativas ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 1.** Força de cisalhamento de carne bovina (*Longissimus dorsi*) *in natura* e processadas a alta pressão, sob diferentes níveis de pressão e tempos de processo.

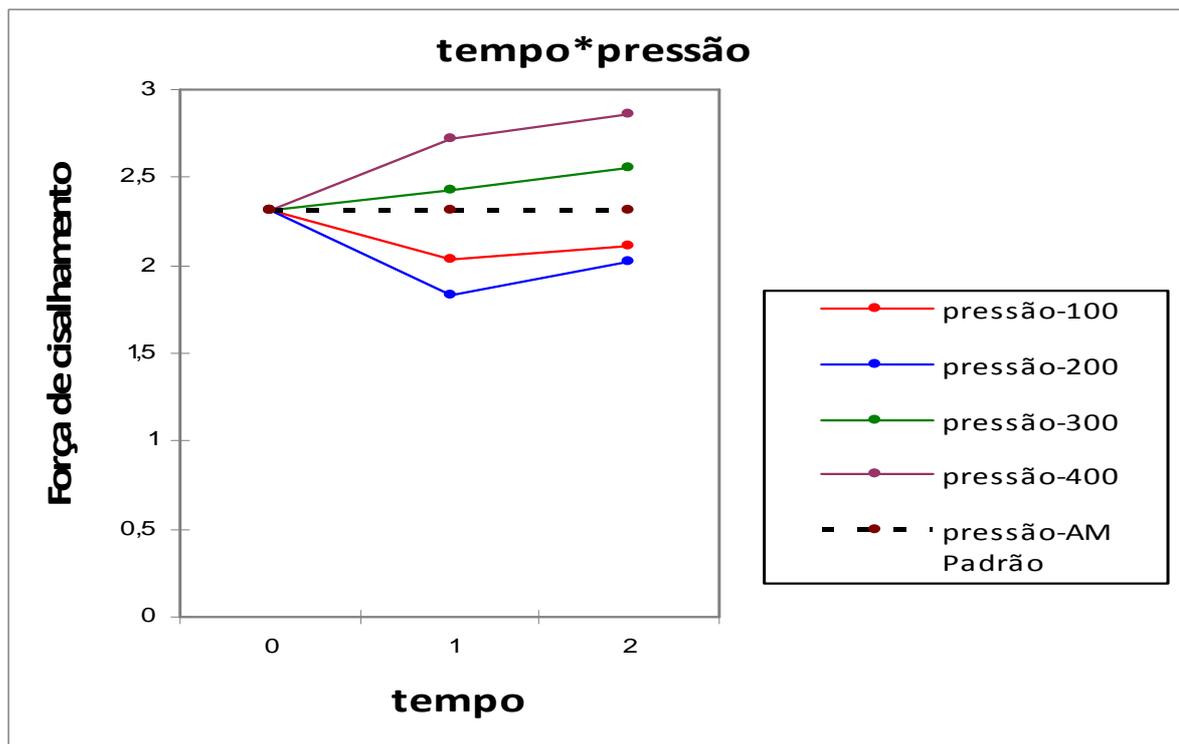
Tratamento	Pressão (MPa)	Força de cisalhamento (Kgf)	% de ganho médio no amaciamento
Carne <i>in natura</i>		2,32 <sup>cd</sup> ± 0,33	
Tempo 1	100	2,03 <sup>e</sup> ± 0,19	12,50
	200	1,83 <sup>e</sup> ± 0,33	21,12
	300	2,43 <sup>c</sup> ± 0,20	- 4,74
	400	2,70 <sup>ab</sup> ± 0,28	- 16,39
Tempo 2	100	2,11 <sup>de</sup> ± 0,28	9,05
	200	2,02 <sup>e</sup> ± 0,19	12,93
	300	2,56 <sup>bc</sup> ± 0,14	- 10,34
	400	2,86 <sup>a</sup> ± 0,10	- 23,28

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ), segundo teste F e t-Student.

O tempo 1 corresponde apenas ao tempo necessário para atingir a pressão estabelecida.

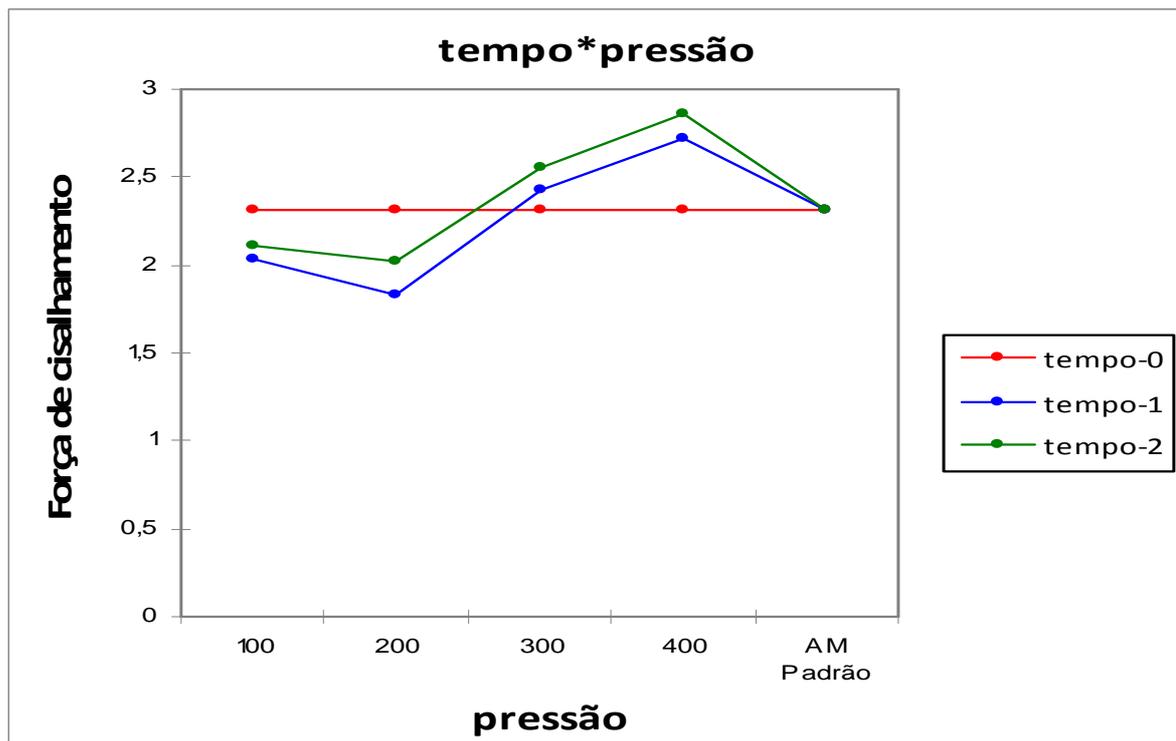
O tempo 2 corresponde a 15 minutos de manutenção à pressão pré-estabelecida após o atingimento da mesma.

Solomon et al. (2006) trabalhando com carne bovina em APH, observaram redução em torno de 23% na força de cisalhamento, determinada pelo método de Warner Bratzler Shear Force (WBSF), quando comparadas a carnes maturadas em processo tradicional. Tal redução resultou independente do tempo de maturação, sugerindo a maior efetividade da APH no aumento da força de cisalhamento em vários cortes de carne. Tais resultados se assemelham com os obtidos na presente pesquisa.



**Figura 1A.** Força de cisalhamento (Kgf) decorrente de processamento de APH com referência a variação do tempo.

Resultados também semelhantes foram observados por outros autores, em que carnes bovinas processadas a 200 MPa apresentaram melhoria na maciez ocorrendo, porém, diminuição da maciez da carne pressurizada acima de 400 MPa (MA & LEDWARD, 2004; SUN & HOLLEY, 2010; SIKES et al., 2010). Segundo Sun & Holley (2010) os efeitos da alta pressão na maciez ou maturação de carnes é dependente da fase de *rigor mortis*, pressão, temperatura e sua combinação. Estes autores sugerem que tratamentos com pressões mais baixas (<200MPa) podem amaciar carnes em fase de *pré-rigor mortis*, enquanto carnes em fase de *pós-rigor mortis* o amaciamento com 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 pré-rigor e da necessidade de temperaturas elevadas na fase pós-rigor, para que ocorra a gelatinização das estruturas de tecido conjuntivo. Tais resultados, no entanto, diferem daqueles observados na presente pesquisa, em que foram observadas melhorias na maciez utilizando baixas temperaturas, apesar de se trabalhar com carnes em fase *pós rigor mortis* (Figura 1A e 1B).



**Figura 1B.** Força de cisalhamento (Kgf) decorrente de processamento de APH com referência a variação da pressão.

#### 4.1.2 Efeito dos níveis de pressão (APH) e tempo de pressurização sobre a perda de peso por cozimento

Os valores de perda de peso por cozimento resultaram também em diferenças não significativas ( $p > 0,05$ ) para amostras pressurizadas a 100, 200 e 300 MPa em tempo 1, quando comparados com a amostra *in natura* (Tabela 2). As amostras pressurizadas no tempo 2 apresentaram maiores perdas por cozimento ( $p < 0,05$ ), sugerindo aumento em tal variável com o aumento do tempo de pressurização, independente da pressão aplicada (Tabela 2).

**Tabela 2.** Perda de peso por cozimento de carne bovina (*Longissimus dorsi*) de Nelore *in natura* e processadas a alta pressão, sob diferentes níveis de pressão e tempos de processo.

Tratamento	Pressão (MPa)	Perda de peso por cozimento (%)
Carne <i>in natura</i>		20,99 <sup>c d</sup> ± 2,04
Tempo 1	100	23,46 <sup>c</sup> ± 1,90
	200	24,52 <sup>c</sup> ± 2,34
	300	27,74 <sup>bc</sup> ± 3,17
	400	28,78 <sup>b</sup> ± 2,69
Tempo 2	100	29,93 <sup>b</sup> ± 2,93
	200	31,17 <sup>ab</sup> ± 3,10
	300	31,95 <sup>ab</sup> ± 2,76
	400	32,51 <sup>a</sup> ± 2,20

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ), segundo teste F e t-Student.

O tempo 1 corresponde apenas ao tempo necessário para atingir a pressão estabelecida.

O tempo 2 corresponde a 15 minutos de manutenção à pressão pré-estabelecida após o atingimento da mesma.

Resultados semelhantes foram encontrados por McArdle et al.(2010), trabalhando com músculo bovino (*Pectoralis profundus*), e por Kim et al. (2007), estudando o músculo *semitendinosus*, nos quais amostras tratadas a 300 e 400 MPa, apresentaram maiores valores de perda por cozimento que amostras não tratadas e tratadas a 100 e 200 MPa, embora somente diferiram significativamente ( $p<0,01$ ) a 400 MPa. Estes autores relataram que os maiores níveis de pressão (300 e 400 MPa) induziram a uma maior perda por cozimento ( $p<0,01$ ) em relação ao processamento a 200 MPa, sugerindo efeito negativo de níveis mais elevados de pressão sobre propriedades de ligação da água na carne. Tal aspecto também foi relatado por MANDAVA et al. (1994); CREHAN et al. (2000); JUNG et al. (2000). Jung et al. (2000) atribuíram a perda da capacidade de retenção de água a uma contração severa e alterações miofibrilares em níveis de pressão mais elevados. Alterações nas proteínas sarcoplasmáticas, que provaram desempenhar um papel importante nas propriedades de ligação da água no músculo de carne fresca (MONIN & LABORDE, 1985; JOO et al., 1999) podem estar em particular relacionadas a diminuição da perda por cozimento, devido a APH. Neste sentido, 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.

#### 4.1.3 Efeito dos níveis de pressão e tempo de pressurização sobre a cor da carne

Houve interação ( $p<0,01$ ) entre a pressão (MPa) e o tempo de pressurização (Tabela 3) aplicado a amostra para o fator L\* (luminosidade). Para o tempo 1 não houve efeito até a pressão de 200 MPa, enquanto a pressão de 400 MPa foi maior que a pressão de 300 MPa em cerca de 26,4% e em relação a carne in natura a diferença ficou em torno de 40%. Isto significa que o uso de pressões de 100 ou 200 MPa não alterou a luminosidade da carne quando comparadas a carne *in natura*. Em tempo 2 apenas à pressão de 100 MPa não sofreu alteração em relação a carne in natura e em pressões de 200, 300 e 400 MPa os valores encontrados foram superiores em 21, 35 e 58% respectivamente. Apenas a amostras pressurizadas a 100 MPa não apresentaram diferença em relação aos diferentes tempos.

**Tabela 3.** Resultado de interação entre a pressão aplicada e o tempo de pressurização para o fator L\* (luminosidade) da característica cor.

Tratamento	Pressão (MPa)	Tempo 1	Tempo 2
Carne <i>in natura</i>		31,58 <sup>d</sup> ± 1,40	
Fator L*	100	32,46 <sup>Ac</sup> ± 1,76	31,69 <sup>Ad</sup> ± 1,36
	200	31,90 <sup>Bd</sup> ± 0,85	38,42 <sup>Ac</sup> ± 0,50
	300	35,27 <sup>Bbc</sup> ± 2,08	42,94 <sup>Ab</sup> ± 1,28
	400	44,51 <sup>Ba</sup> ± 7,42	50,07 <sup>Aa</sup> ± 1,59

Medias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúsculas na linha não diferem significativamente pela teste t ( $p>0,01$ ).

Os valores superiores encontrados nas amostras pressurizadas a 200, 300 e 400 MPa, em tempo 2, sugerem que maiores tempos de pressurização acarretam aumento no valor de L\* (luminosidade). A utilização de pressões de 300 e 400 MPa em tempo 1 e acima de 100 MPa

em tempo 2, tendo como consequência a perda de luminosidade, poderá implicar na “perda de cor / embranquecimento” da carne, fato que torna o produto inviável comercialmente.

Jung et al. (2003) relataram um aumento nos valores de L\* da carne bovina (*Biceps femoris*) após 350 MPa a temperatura de 10°C. Carlez et al. (1995) também observaram aumento nos valores de luminosidade, em pressões que variam entre 200 e 350 MPa a 10°C em carne moída fresca. Shigehisa et al. (1991) observaram mudanças similares nos valores de L\* e a\* em carne de suína pressurizada. Os valores de L\* começaram a aumentar em pressões entre 100 e 200 MPa, alcançando um valor máximo em pressões entre 300 e 400 MPa. Verificaram que, acima de 600 MPa, não houve nenhuma alteração. Os autores verificaram que um decréscimo moderado nos valores de a\* ocorreu em pressões entre 100 e 200 MPa, progredindo até 600 MPa, e relataram que nenhuma explicação era evidenciada para estes fenômenos. O aumento nos valores de L\* ou “redução da cor / embraquecimento” tem sido atribuído á desnaturação da globina, deslocamento do radical heme ou liberação e oxidação de íons ferrosos (CHEFTEL & CULIOLI, 1997), resultados também observados no presente trabalho (Figura 1).

Outros autores têm sugerido que a aparência mais clara na carne também poderia ser devido a alterações no conteúdo da água da carne (MUSSA, 1999), fato não observado neste estudo. McArdle et al. (2010) estudaram os efeitos combinados do tratamento de alta pressão e da temperatura na carne bovina (*Pectoralis profundus*), utilizando pressões de 200, 300 e 400 MPa a duas diferentes temperaturas (20°C e 40°C), e concluíram que a pressurização a 200 MPa teve um menor impacto sobre os parâmetros de cor do que pressões maiores. O processamento a alta pressão teve um efeito significativo sobre os parâmetros de cor (L\*, a\*, b\*), sendo que com exceção do tratamento a 200 MPa a 20°C, todas as demais condições resultaram em um aumento no valor de L\* (luminosidade). Marcos et al. (2010) trabalhando com carne bovina (*Longissimus dorsi*) e utilizando pressões variando de 200 – 600 MPa, observaram resultados semelhantes, ou seja, em amostras pressurizadas a pressões acima de 200 MPa ocorreram alterações relevantes na cor.

Os efeitos da APH sobre os valores de a\* estão apresentados nas Tabela 4. Houve interação (p<0,01) entre a pressão (MPa) e o tempo de pressurização aplicado a amostra para o fator a\* (cor vermelha), resultando em valores inferiores para as amostras pressurizadas em comparação com as amostras *in natura*. Para o tempo 1 ocorreu uma redução em torno de 17% para amostras pressurizadas em 100 e 200 MPa e uma redução maior ainda para amostras pressurizadas a 300 e 400 MPa, em torno de 25 e 32% respectivamente.

**Tabela 4.** Resultado de interação entre a pressão aplicada e o tempo de pressurização para o fator a\* (intensidade da cor vermelho) da característica cor.

Tratamento	Pressão (MPa)	Tempo 1	Tempo 2
Carne <i>in natura</i>		34,31 <sup>a</sup> ± 2,71	
Fator a*	100	28,68 <sup>Abc</sup> ± 1,08	30,17 <sup>Ab</sup> ± 0,67
	200	28,64 <sup>Abc</sup> ± 2,28	27,33 <sup>Bcd</sup> ± 0,97
	300	25,95 <sup>Ad</sup> ± 1,73	27,11 <sup>AcD</sup> ± 1,18
	400	23,41 <sup>Be</sup> ± 1,68	28,44 <sup>Abc</sup> ± 0,90

Medias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúsculas na linha não diferem significativamente pela teste t (p>0,01).

Em tempo 2 a redução foi ligeiramente menor na casa de 13% para amostras pressurizadas em 100 MPa, em torno de 21% para amostras pressurizadas em 200 e 300 MPa

e 18% para amostras pressurizadas em 400 MPa, sugerindo que em tempo 1 há uma tendência de redução com o aumento da pressão aplicada e em tempo 2 essa tendência também é observada, porém em 400 MPa os valores tendem a aumentar sugerindo que em altas pressões com maiores tempos de pressurização os valores do fator  $a^*$  possam retornar para próximo dos valores da carne *in natura*.

Estes resultados foram diferentes dos obtidos por Carlez et al. (1995), que relataram não haver alterações significativas nos valores de  $a^*$  em carne bovina tratada com pressões até 400 MPa.

Os efeitos da APH sobre os valores de  $b^*$  estão apresentados na Tabela 5. Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores da carne *in natura* e das amostras pressurizadas, onde observou-se uma redução dos valores em torno de 23, 18, 23 e 7%, respectivamente, para as amostras pressurizadas em 100, 200, 300 e 400 MPa, sugerindo que para amostras pressurizadas acima de 300 MPa há uma tendência de retorno do valor para próximo do encontrado na carne *in natura*. Em relação aos diferentes tempos de pressurização não foi encontrado diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 5.** Efeitos das condições de tratamento a APH (níveis de pressão e tempo de pressurização) sobre o atributo  $b^*$  (intensidade da cor amarela) da característica cor.

Tratamento		$b^*$
Carne <i>in natura</i>		20,76 <sup>a</sup> ± 2,80
Pressão	100 MPa	16,05 <sup>c</sup> ± 0,85
	200 MPa	17,14 <sup>c</sup> ± 1,70
	300 MPa	16,10 <sup>c</sup> ± 1,12
	400 MPa	19,35 <sup>b</sup> ± 1,69
Tempo	<i>P</i>	< 0,0001
	1	16,50 <sup>c</sup> ± 1,68
	2	17,89 <sup>c</sup> ± 1,99
	<i>P</i>	< 0,004

L\* = luminosidade,  $a^*$  = intensidade da cor vermelha,  $b^*$  = intensidade da cor amarela. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa, segundo teste F e t-Student.

O tempo 1 corresponde apenas ao tempo necessário para atingir a pressão estabelecida.

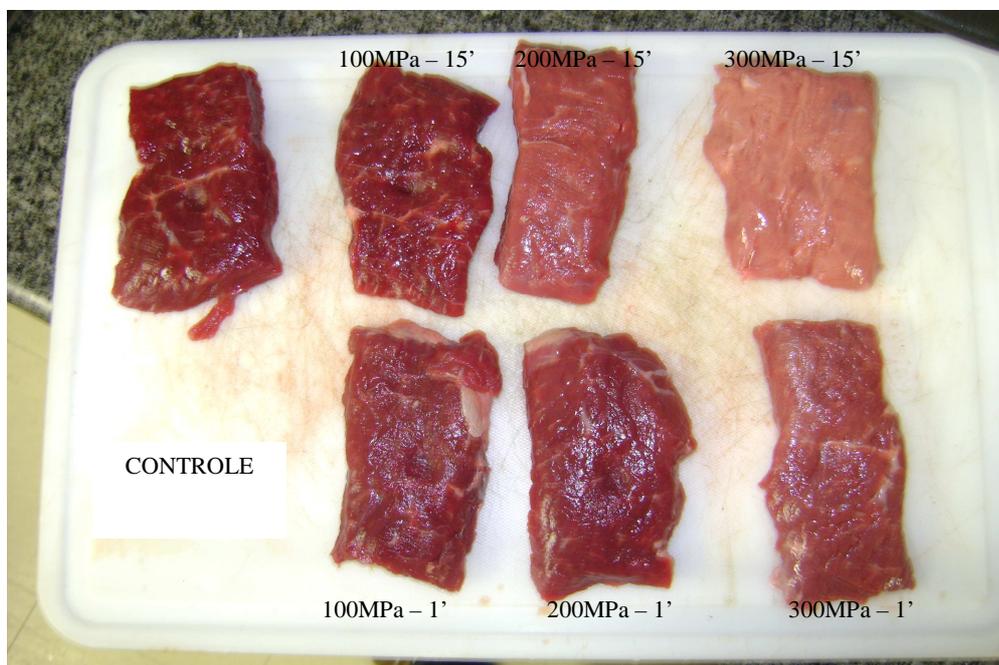
O tempo 2 corresponde a 15 minutos à pressão pré-estabelecida após atingir-se a mesma.

Estes resultados foram diferentes dos obtidos por Carlez et al. (1995), que relataram não haver alterações significativas nos valores de  $b^*$  em carne bovina tratada com pressões até 400 MPa.

Goutefongea et al (1995) observaram que o tratamento a 600 MPa (20°C por 30 min.) aumentou os valores de  $b^*$  da carne bovina picada. Estes autores atribuíram esse aumento a mudanças no estado químico da mioglobina. O aumento nos valores de  $b^*$ , devido a APH, tem sido relacionado à formação de metamioglobina (CARLEZ et al., 1995).



**Figura 2A.** Observação visual da cor da carne pressurizada e *in natura*, embalada a vácuo. As carnes pressurizadas na linha superior referem-se ao tratamento pressurizado a tempo de 15 minutos e as carnes da linha inferior referem-se as carnes pressurizadas apenas até o tempo de pressurização requerida.



**Figura 2B.** Observação visual da cor da carne pressurizada e *in natura*, sem a embalagem a vácuo. As carnes pressurizadas na linha superior referem-se ao tratamento pressurizado a tempo de 15 minutos e as carnes da linha inferior referem-se as carnes pressurizadas apenas até o tempo de pressurização requerida.

## 4.2 Efeito Comparativo da APH e da Maturação Convencional Sobre a Textura e Outras Características da Carne

### 4.2.1 Efeito comparativo da APH e maturação convencional sobre a força de cisalhamento

Os resultados obtidos para força de cisalhamento estão apresentados na Tabela 6, onde foi observado redução significativa ( $p < 0,05$ ) nos valores para carne maturada de 9,77%, e ainda maiores para carne pressurizada a 200 MPa de até 21,82%, em comparação com a carne *in-natura*.

**Tabela 6.** Resultados das análises de força de cisalhamento de carne bovina (*Longissimus dorsi*) *in-natura*, maturada e pressurizada sob alta pressão hidrostática.

Tratamento	Força de cisalhamento (Kgf)	% de ganho médio no amaciamento
Carne <i>in-natura</i>	3,07 <sup>c</sup> ± 0,24	-
Carne maturada*	2,77 <sup>b</sup> ± 0,21	9,77%
Carne pressurizada**	2,40 <sup>a</sup> ± 0,19	21,82%

\*: Carne maturada em temperatura de 2°C por 14 dias.

\*\* : Carne pressurizada a 200 MPa/ em tempo corresponde apenas ao necessário para atingir a pressão estabelecida.

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo teste F e t-Student.

Resultados semelhantes aos encontrados neste estudo foram obtidos por Solomon et al. (2006), trabalhando com carne bovina em APH, encontrando redução em torno de 23% na força de cisalhamento, determinada pelo método de Warner Bratzler Shear Force (WBSF), quando comparadas a carnes maturadas em processo tradicional, independente do tempo de maturação. Tais resultados mostraram que a APH foi efetiva para aumentar a maciez de vários cortes de carne.

No trabalho realizado por Johnson et al. (1990) foi observado que a maturação possibilitou aumento significativo na maciez após dez dias, resultados que se assemelham ao do presente estudo, sugerindo que a carne maturada de animais zebuínos se assemelha a carne de animais taurinos (Angus), não submetida à maturação.

Os resultados obtidos no presente estudo se assemelham, também, ao de Sikes et al. (2010), quando compararam a textura de carne bovina *post-rigor* (*Sternomandibularis*) cozida a 60°C por 20 minutos, submetida ou não a tratamento a 200 MPa, antes do cozimento, onde as análises de textura apontaram uma melhora significativa na maciez decorrentes da pressurização prévia, reduzindo os valores de força máxima de cisalhamento, determinada pelo método de Warner Bratzler.

### 4.2.2 Efeito da APH e maturação convencional sobre a perda de peso por cozimento

Os valores médios (Tabela 7) em porcentagem encontrados para perda de peso por cozimento para carne não tratada, maturada e processada por APH, não resultaram em diferenças significativas ( $p > 0,05$ ), sugerindo semelhança no efeito dos tratamentos sobre perdas por cozimento.

**Tabela 7.** Resultados das análises de perda de peso por cozimento de carne bovina (*Longissimus dorsi*) *in-natura*, maturada e pressurizada sob alta pressão hidrostática.

Tratamento	Perda de peso por cozimento (%)
Carne <i>in-natura</i>	35,40 <sup>a</sup> ± 4,42
Carne maturada*	38,00 <sup>a</sup> ± 4,35
Carne pressurizada**	40,80 <sup>a</sup> ± 4,87

\*: Carne maturada em temperatura de 2°C por 14 dias.

\*\* : Carne pressurizada a 200 MPa/ em tempo corresponde apenas ao necessário para atingir a pressão estabelecida. Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo teste F e t-Student.

Estes resultados se assemelham aos de McArdle et al. (2010), Kim et al. (2007), Crehan et al. (2000), Jung et al. (2000) e Mandava et al. (1994), que só observaram perdas por cozimento significativas na carne bovina quando submetidas a pressões superiores a 300 MPa, sugerindo um efeito negativo nos níveis mais elevados de pressão sobre o propriedades de ligação de água da carne, o que foi atribuído a alterações miofibrilares relacionadas a contração severa em níveis mais elevados de pressão (Joo et al., 1999; Monin & Laborde, 1985; Marcos et al., 2010).

#### 4.2.3 Efeito da APH e maturação convencional sobre a cor

O processamento de maturação e alta pressão promoveram efeitos significativos sobre a coordenada ( $a^*$ ) no músculo *Longissimus dorsi* (Tabela 8). A carne maturada apresentou aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no valor de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  quando comparados aos demais tratamentos, no entanto para o valor da coordenada  $a^*$  todos os tratamentos diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 8.** Resultados das análises de cor instrumental da carne bovina (*Longissimus dorsi*) *in-natura*, maturada e pressurizada sob alta pressão hidrostática.

Tratamento	$L^*$	$a^*$	$b^*$
Carne <i>in-natura</i>	34,93 <sup>a</sup> ± 1,16	14,43 <sup>a</sup> ± 1,04	11,10 <sup>a</sup> ± 1,26
Carne maturada* <sup>1</sup>	39,17 <sup>b</sup> ± 1,18	18,87 <sup>c</sup> ± 0,94	14,83 <sup>b</sup> ± 1,45
Carne pressurizada* <sup>2</sup>	35,50 <sup>a</sup> ± 0,98	15,43 <sup>b</sup> ± 0,92	11,77 <sup>a</sup> ± 1,50

\*1: Carne maturada em temperatura de 2°C por 14 dias.

\*2: Carne pressurizada a 200 MPa/ em tempo corresponde apenas ao necessário para atingir a pressão estabelecida.

$L^*$ = luminosidade,  $a^*$ = intensidade da cor vermelha,  $b^*$ = intensidade da cor amarela. Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo teste F e t-Student.

Os valores de  $L^*$  nos tratamentos *in natura* e pressurizada não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), concordam com os resultados obtidos por Shigehisa et al. (1991); Carlez et al. (1995); Jung et al. (2003); McArdle et al.(2010) e Marcos et al. (2010), que sugerem alterações relevantes na cor para coordenada  $L^*$  somente em amostras pressurizadas a pressões acima de 200 MPa e, ainda, sugerem que o aumento no valor de  $L^*$  provoca um efeito de embranquecimento, observado no presente trabalho para carne maturada. E, ainda, que esse efeito pode causar rejeição por parte do consumidor na hora da compra. Esse efeito

foi relacionado ao ambiente anaeróbico produzido na embalagem à vácuo que inibe crescimento de inúmeras bactérias, retarda autoxidação da fração lipídica elevando a validade comercial do produto, porém influencia diretamente na cor, pois a oximioglobina converte-se em metamioglobina, normalmente causando certa rejeição (JOHN et al., 2005). Essa rejeição pode também estar relacionada ao alto valor encontrado na coordenada b\*, que corresponde a cor amarela, na carne maturada, enquanto os outros tratamentos não apresentaram diferenças significativas ( $p>0,05$ ).

Shigehisa et al. (1991); Carlez et al. (1995); Jung et al. (2003); McArdle et al. (2010) e Marcos et al. (2010) sugeriram, ainda, que para coordenada a\*, relacionada a cor vermelha, ocorreria um decréscimo dos valores em função da pressurização da carne a 200MPa, o que não foi visualizado no presente estudo, onde a carne pressurizada expressou valores superiores à carne não tratada e à carne maturada, sendo significativa ( $p<0,05$ ) a diferença entre os tratamentos.

#### 4.2.4 Efeito da APH e maturação convencional sobre o índice de fragmentação miofibrilar

Na Tabela 9, podem ser verificados os valores para o índice de fragmentação miofibrilar encontrados entre os tratamentos, retratando diferença estatística ( $p<0,05$ ) entre os tratamentos, sendo o maior valor de fragmentação encontrado na carne pressurizada, seguido da carne maturada, observando-se o menor encontrado na carne não tratada.

Esses resultados sugerem que na maturação convencional ocorreu quebra da linha Z da miofibrila durante o tratamento por ação das enzimas proteolíticas, porém o maior valor observado para carne pressurizada sugere quebras ainda maiores durante o processo de alta pressão hidrostática, verificadas no maior valor de IFM. O maior IFM, decorrente da alta pressão, pode estar relacionada a maior ativação da calpaína, maior liberação de catepsinas lisossomais e a inativação da calpastatina a 200 MPa, como sugerem alguns autores, que mostraram que as calpaínas resistiram a alterações até a pressão de 200 MPa, enquanto as calpastatinas foram inativadas a 100 MPa (HOMMA et al., 1995, 1996). Verificaram, ainda, que a APH aumentou a liberação das catepsinas lisossomais e, como decorrência, houve o incremento 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. Resultados similares foram encontrados por Hugas et al. (2002), que observaram que carnes tratadas a 200 MPa apresentavam inibição da ação da calpastatina; porém, nesse caso, somente a 400 MPa foi observada degradação da calpaína. Assim, o aumento da atividade das calpaínas e catepsinas na carne pressurizada e a inativação de calpastatinas, conjuntamente a 200 MPa, resultariam no amaciamento da carne.

**Tabela 9.** Resultados das análises de índice de fragmentação miofibrilar da carne bovina (*Longissimus dorsi*) *in-natura*, maturada e pressurizada sob alta pressão hidrostática.

Tratamento	IFM
Carne <i>in-natura</i>	13,78 <sup>a</sup> ± 0,75
Carne maturada*	44,00 <sup>b</sup> ± 1,65
Carne pressurizada**	61,44 <sup>c</sup> ± 2,31

\*: Carne maturada em temperatura de 2°C por 14 dias.

\*\* : Carne pressurizada a 200 MPa/ em tempo corresponde apenas ao necessário para atingir a pressão estabelecida.

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem significativamente ( $p<0,05$ ), segundo teste F e t-Student.

Resultados semelhantes do presente estudo foram encontrados por Suzuki et al. (1990) trabalhando com carne bovina pressurizada (100-300 MPa, a 5 minutos), que obteve 80% de fragmentação de miofibrilas trabalhando em 200 MPa, enquanto no presente trabalho em uma escala de 30 a 100 foram encontrados valores próximos a 61,44, sugerindo melhoria na maciez da carne. Estes autores, no entanto, sugerem que a 200 MPa a continuidade estrutural do sarcômero foi quase completamente perdida, com trincas nos filamentos A e I distribuídas ao longo do sarcômero, a perda total da linha-M e o espessamento da linha Z, provavelmente devido ao colapso do filamento-I. Sendo assim, a fragmentação das miofibrilas durante a maturação convencional seria derivada da ruptura das miofibrilas na linha-Z, enquanto que a linha-Z nas miofibrilas fragmentadas da carne pressurizada aparentemente permanecem intactas.

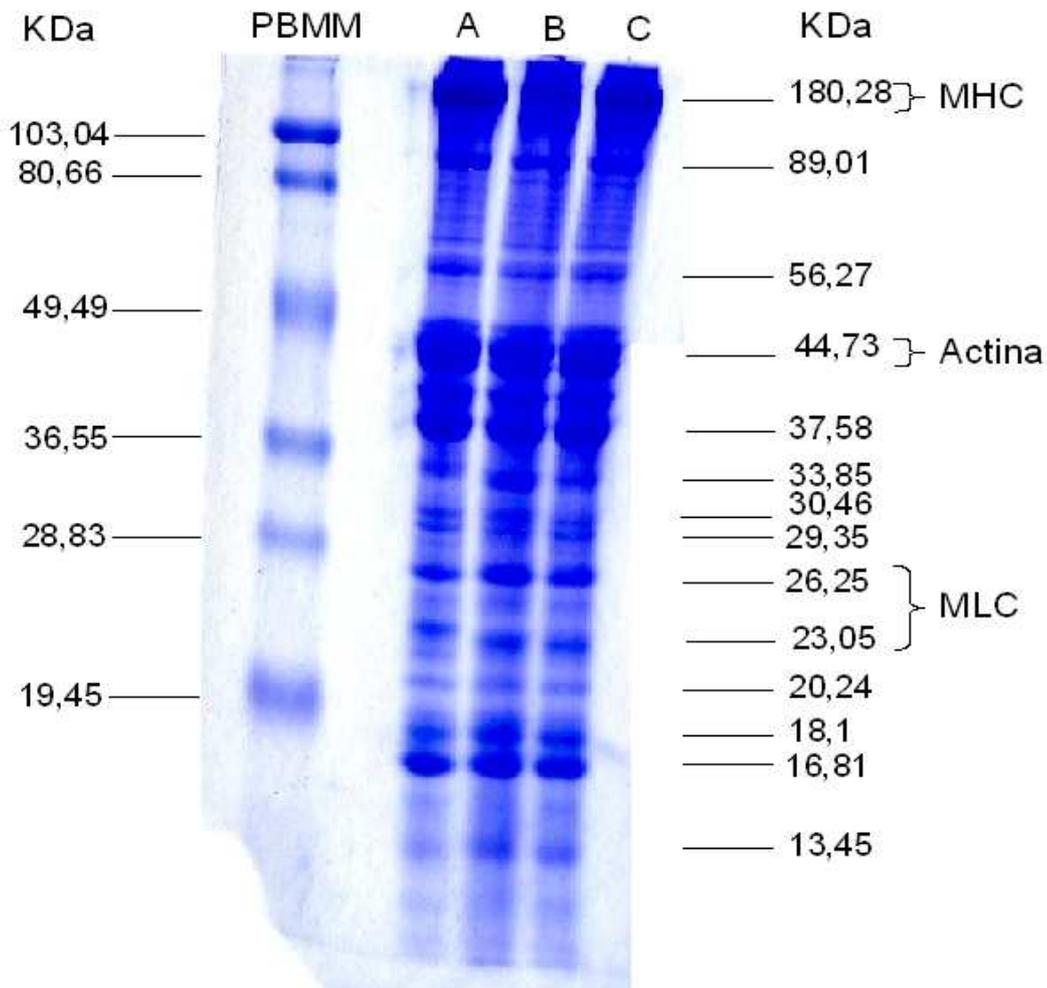
#### **4.2.5 Efeito da APH e maturação convencional sobre o perfil de proteínas**

O estudo do efeito comparativo da APH e maturação convencional sobre o perfil eletroforético na presente pesquisa foi realizado em relação às proteínas miofibrilares actina e miosina, por constituírem a maior parte da estrutura protéica. Na Figura 3, 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.

Estes extratos foram provenientes da carne *in natura*, maturada convencionalmente e pressurizada a 200 MPa. As proteínas miofibrilares que se caracterizam na contração muscular e relacionada e maciez da carne mostraram-se presentes nos extratos em estudo, na seguinte forma (Figura 3): a) uma banda fortemente corada de 180,28 kDa, que representa a cadeia pesada de miosina; b) duas bandas de 23,05 e 26,25 kDa que representam as cadeias leves de miosina; c) uma banda intensamente corada de 44,73 kDa que representa cadeias de actina.

Das 14 cadeias polipeptídicas identificadas nas amostras, nenhuma desapareceu. Foi verificada menor intensidade de coloração da banda de 13,45 kDa, na amostra *in natura*. A amostra pressurizada também apresentou menor intensidade na banda de 180,28 kDa, que se refere à cadeia pesada de miosina, enquanto que a maturada ainda menor intensidade que a pressurizada. Estes resultados não estão em acordo com o descrito por Ko & Hsu (2002), que mostraram que bandas de proteínas acima de 97 Kda desapareceram com o tratamento de alta pressão (200 e 300 MPa). Porém, no presente estudo, com a mesma pressurização (200 MPa), verificou-se uma moderada redução na intensidade de coloração.

Estes resultados concordam com Scheibenzuber et al. (2002), em pesquisas realizadas com carne de porco, quando verificaram que alterações nas proteínas miofibrilares avaliadas por eletroforese SDS-PAGE decorrentes de tratamentos a diferentes pressões, em particular a solubilização da miosina, depende da magnitude e da duração da pressão aplicada.



A – Carne congelada B–Carne maturada C–Carne pressurizada  
 PBMM – Padrão de baixa massa molecular  
 MHC – Cadeia pesada da miosina  
 MLC – Cadeia leve da miosina

**Figura 3.** Perfil eletroforético das proteínas extraídas da carne in natura, maturada convencional e pressurizada a 200 MPa.

#### 4.2.6 Efeito da APH e maturação convencional sobre o teor de ácidos graxos

Na Tabela 10, podem ser verificados os valores encontrados para o teor de ácidos graxos, retratando diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, para a maioria dos ácidos graxos analisados.

Os ácidos mirístico (C14) e palmítico (C16), apresentaram redução significativa ( $p < 0,05$ ) dos seus valores em carnes pressurizada e maturada, respectivamente, em relação ao controle, demonstrando que para estes ácidos a maturação provocou maior alteração na concentração em relação a alta pressão. Para os ácidos oléico (C18:1), linoléico (C18:2) e araquídico (C20), ocorreu aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da concentração, em ambos

tratamentos, em relação ao controle (*in natura*) não diferem entre si. Ocorreram alterações também para o ácido palmitoléico (C16:1), onde a pressão provocou aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da concentração, em relação aos demais tratamentos, em contra partida a pressão reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) o nível do ácido esteárico (C18). O ácido linolênico apresentou aumento significativo ( $p < 0,05$ ) de sua concentração na carne pressurizada e ainda maiores taxas na carne maturada. Para o ácido behênico ocorreu redução significativa ( $p < 0,05$ ), na carne maturada e pressurizada, respectivamente, em relação a carne *in natura*. e por fim o ácido lignocérico, onde a carne *in natura* e pressurizadas não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ), porém na carne maturada não houve a detecção deste ácido, sugerindo a redução da concentração pela maturação. A relação ácido graxo saturado/insaturado apresentou-se equivalente na carne maturada (36,94/58,11) e pressurizada (39,88/61,85), porém em relação a carne *in natura* (57,52/42,58), ocorreu inversão na proporção, observada pelos maiores valores de ácidos saturados em relação aos insaturados que foram observados na carne *in natura*.

**Tabela 10.** Resultados de teor de ácidos graxos de carne bovina (*Longissimus dorsi*) *in-natura*, maturada e pressurizada sob alta pressão hidrostática.

Ácidos graxos		Carne <i>in-natura</i>	Carne maturada* <sup>1</sup>	Carne pressurizada* <sup>2</sup>
C14	Ác. Mirístico	1,75 <sup>a</sup> ± 0,13	0,00 <sup>c</sup> ± 0,00	0,98 <sup>b</sup> ± 0,00
C16	Ác. Palmítico	40,89 <sup>a</sup> ± 2,17	22,84 <sup>c</sup> ± 0,82	28,95 <sup>b</sup> ± 1,35
C16:1	Ác. Palmitoléico	4,11 <sup>b</sup> ± 0,13	3,61 <sup>b</sup> ± 0,46	5,17 <sup>a</sup> ± 0,09
C18	Ác. Esteárico	9,46 <sup>a</sup> ± 0,96	10,60 <sup>a</sup> ± 1,25	7,30 <sup>b</sup> ± 0,08
C18:1	Ác. Oléico	36,03 <sup>b</sup> ± 0,47	43,42 <sup>a</sup> ± 4,44	44,42 <sup>a</sup> ± 7,38
C18:2	Ác. Linoléico	2,25 <sup>b</sup> ± 0,10	8,85 <sup>a</sup> ± 0,54	10,59 <sup>a</sup> ± 0,94
C20	Ác. Araquídico	0,73 <sup>b</sup> ± 0,13	2,10 <sup>a</sup> ± 0,31	1,23 <sup>a</sup> ± 0,02
C18:3	Ác. Linolênico	0,19 <sup>c</sup> ± 0,00	2,23 <sup>a</sup> ± 0,30	1,67 <sup>b</sup> ± 0,03
C22	Ác. Behênico	3,00 <sup>a</sup> ± 0,76	1,40 <sup>b</sup> ± 0,30	0,12 <sup>c</sup> ± 0,00
C24	Ác. Lignocérico	1,69 <sup>a</sup> ± 0,16	0,00 <sup>b</sup> ± 0,00	1,30 <sup>a</sup> ± 0,00
Relação saturado/insaturado		1,35	0,64	0,64

\*1: Carne maturada em temperatura de 2°C por 14 dias.

\*2: Carne pressurizada a 200 MPa em tempo corresponde apenas ao necessário para atingir a pressão estabelecida.

Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo teste F e t-Student.

Os resultados encontrados no presente estudo divergem dos resultados de outros trabalhos (CHEAH & LEDWARD, 1996; MA & LEDWARD, 2004; MCARDLE et al., 2010), onde somente a carne pressurizada com valores  $\geq 400$  MPa, apresentaram redução da estabilidade oxidativa e alterações no teor de ácidos graxos, enquanto neste trabalho para carne pressurizada a 200MPa ocorreram alterações significativas. McArdle et al. (2010) não encontraram variações na relação ácidos graxos poliinsaturados/saturados (AGPI/AGS) ou omega-6/omega-3, sugerindo que os tratamentos com pressões moderadas (200 MPa) afetam minimamente os parâmetros de qualidade da carne, resultados estes que divergem dos obtidos, onde a 200 MPa foi encontrado diferenças na relação ácidos graxos saturados/insaturados.

Segundo Kris-Etherton et al. (2001) a composição de AG da gordura intramuscular da carne bovina é cerca de 40% de saturados, 5% de cadeia ímpar, 45% de monoinsaturados e 10% de polinsaturados, resultados que são próximos aos encontrados neste presente estudo para carnes pressurizada e maturada, mas na carne *in natura* os valores de saturados foi muito superior ao sugerido por estes pesquisadores, que ainda sugerem que o ácido mirístico é o AG saturado mais relacionado a presença de altos níveis de colesterol no sangue e no presente estudo encontramos redução significativa nos valores deste ácido para a carne pressurizada e não foi encontrado nenhum valor na carne maturada, sugerindo que estas podem ser mais saudáveis.

#### 4.2.7 Análise sensorial das amostras

As médias de “aceitação global” e “textura” são mostradas na Tabela 11. Não houve diferença significativa na aceitação global dos tratamentos, porém os consumidores preferiram a textura das carnes *in natura* e maturada, observadas por apresentar notas mais elevadas.

Entretanto, sabe-se que a média não é a maneira mais adequada de expressar os resultados (MacFie, 2005) pois não considera a resposta individual de cada participante. Considerando a análise de cluster nos dados da preferência, observa-se a formação de três segmentos de consumidores com respostas similares. O dendrograma é mostrado na Figura 4 onde três grupos foram identificados, os quais compreenderam 38, 17 e 16 indivíduos, nove participantes foram excluídos da análise, pois atribuíram a mesma nota para todas as amostras, não se encaixando, portanto, nos requisitos da *cluster analysis*.

**Tabela 11.** Médias das notas de aceitação global e da textura considerando todos os consumidores (n=80).

Amostra	Aceitação global	Textura
<i>In natura</i>	6,4	5,6 <sup>b</sup>
Maturada	5,9	5,6 <sup>b</sup>
Pressurizada	5,8	5,0 <sup>a</sup>

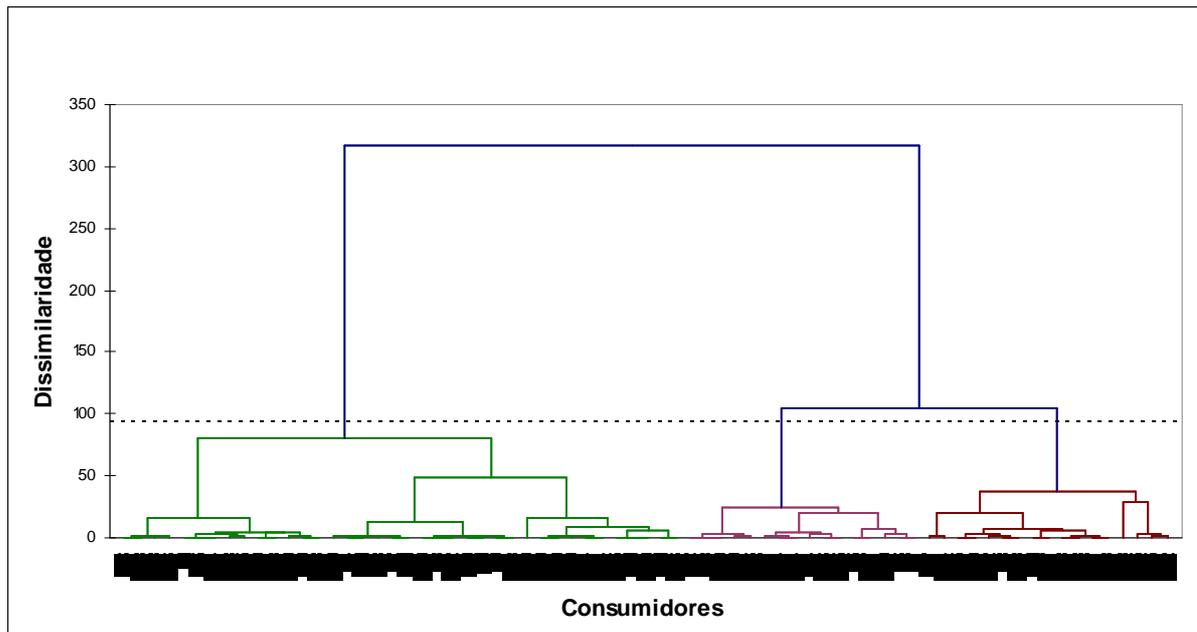
<sup>§</sup> avaliada em escala hedônica estruturada de 9-pontos variando de 1: desgostei extremamente a 9: gostei extremamente. Letras diferentes na mesma coluna indicam em diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Este resultado demonstrou a heterogeneidade na preferência dentre os participantes a qual pode ter contribuído para a divergência na percepção das características sensoriais. As médias de aceitação para os três segmentos observados são mostrados nas Tabelas 12 e 13.

**Tabela 12.** Médias para a aceitação<sup>§</sup> para os três segmentos identificados.

Amostra	Segmento 1 (n=38)	Segmento 2 (n=17)	Segmento 3 (n=16)
<i>In natura</i>	7,0 <sup>a</sup>	4,6 <sup>c</sup>	6,0 <sup>c</sup>
Maturada	7,4 <sup>a</sup>	4,6 <sup>c</sup>	2,9 <sup>d</sup>
Pressurizada	6,3 <sup>b</sup>	6,2 <sup>b</sup>	3,4 <sup>d</sup>

<sup>§</sup> avaliada em escala hedônica estruturada de 9-pontos variando de 1: desgostei extremamente a 9: gostei extremamente. Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo teste F e t-Student.



**Figura 4.** Dendrograma dos consumidores.

O segmento 1 (n=38) preferiu as carnes *in natura* e maturada, enquanto os indivíduos do segmento 2 (n=17) gostaram da carne pressurizada. Por outro lado, consumidores do segmento 3 (n=16) gostaram da carne *in natura* e desgostaram das demais (médias na região de rejeição).

**Tabela 13.** Médias para a aceitação<sup>§</sup> em relação à textura para os três segmentos identificados.

Amostra	Segmento 1 (n=38)	Segmento 2 (n=17)	Segmento 3 (n=16)
<i>In natura</i>	6,1 <sup>b</sup>	4,1 <sup>ef</sup>	5,4 <sup>bcd</sup>
Maturada	7,4 <sup>a</sup>	4,4 <sup>de</sup>	2,9 <sup>f</sup>
Pressurizada	5,5 <sup>bc</sup>	5,0 <sup>cde</sup>	2,8 <sup>f</sup>

<sup>§</sup> avaliada em escala hedônica estruturada de 9-pontos variando de 1: desgostei extremamente a 9: gostei extremamente. Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo teste F e t-Student.

A Tabela 14 mostra a frequência de cada um dos termos avaliados no método CATA utilizados para descrever as carnes submetidas aos diferentes tratamentos considerando todos os 80 consumidores. Os mais frequentes foram: sabor bom, fibrosa, dura, macia, saborosa, aroma característico e também, suculenta e pálida. Diferenças significativas foram observadas na percepção de quatro atributos, relacionados principalmente à textura e odor das carnes. A carne pressurizada foi percebida como suculenta ( $p=0,03$ ) pelos participantes. Entretanto, foi também descrita como fibrosa ( $p=0,008$ ), dura ( $p=0,03$ ) e a menos citada para aroma estranho ( $p=0,04$ ).

A carne maturada foi a menos citada como suculenta e este resultado diverge dos encontrados na avaliação instrumental da perda de água por cozimento, onde não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. Entretanto, tal comparação é válida quando a avaliação sensorial é feita por provadores treinados o que não foi o caso do presente estudo.

Segundo Sasaki et al. (2010) estudos são necessários para investigar a relação entre a textura instrumental e os termos sensoriais, os quais ainda não são totalmente compreendidos mesmo pela equipe treinada.

**Tabela 14.** Frequência em que cada atributo foi mencionado para as amostras de carne bovina analisadas por 80 consumidores utilizando a metodologia CATA (“Check-all-that-apply”).

Atributo sensorial	Carne <i>in-natura</i>	Carne maturada* <sup>1</sup>	Carne pressurizada* <sup>2</sup>	p
Macia	31	29	21	0.1484 ns
Suculenta	21 <sup>a</sup>	14 <sup>b</sup>	26 <sup>a</sup>	0.0358 *
Saborosa	31	28	24	0.3389 ns
Fibrosa	33 <sup>b</sup>	26 <sup>a</sup>	41 <sup>c</sup>	0.0084 **
Sabor estranho	4	6	4	0.6977 ns
Dura	21 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	34 <sup>b</sup>	0.0327 *
Aroma característico	31	21	26	0.0814 ns
Borrachenta	18	15	23	0.2067 ns
Sabor bom	43	35	33	0.1484 ns
Deliciosa	7	7	9	0.7681 ns
Salgada	6	7	3	0.2371 ns
Pálida	22	26	23	0.6511 ns
Ressecada	15	20	15	0.4373 ns
Sabor ruim	4	4	0	0.1013 ns
Cor atrativa	18	14	18	0.6186 ns
Difícil de deglutir	9	9	16	0.1409 ns
Aroma estranho	4 <sup>a</sup>	8 <sup>b</sup>	2 <sup>a</sup>	0.0436 *

\*1: Carne maturada à 2°C por 14 dias.

\*2: Carne pressurizada a 200 MPa/ em tempo corresponde apenas ao necessário para atingir a pressão estabelecida.

Os resultados estão apresentados sobre o número de observações do atributo. \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; ns = não significativo. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo teste F e t-Student.

Apesar de ter sido pouco citado o termo aroma estranho diferiu na frequência de citação ( $p = 0,04$ ) e a carne maturada convencionalmente foi percebida como tendo o referido atributo. Tal resultado pode sugerir o possível crescimento de bactérias lácticas na carne durante o processo anaeróbico de maturação convencional e tais bactérias terem alterado o odor da carne, percebido mesmo após a cocção.

Os resultados das análises CATA para todos os participantes são mostrados na Figura 5. As amostras foram separadas pela primeira dimensão onde se observa que a carne maturada foi descrita como pálida, ressecada, aroma e sabor estranhos. A amostra controle foi mencionada como sabor bom, saborosa, macia, além de sabor ruim e salgado, enquanto a pressurizada principalmente pelos atributos de suculenta, fibrosa, borrachenta, difícil de deglutir, dura e, ao mesmo tempo, deliciosa. Observam-se algumas inconsistências em relação à percepção das características sensoriais as quais podem estar relacionadas com a maior ou menor preferência dos participantes para os produtos, além da divergência em relação à compreensão (significado) dos atributos avaliados, pois participaram deste estudo, consumidores e não provadores treinados.

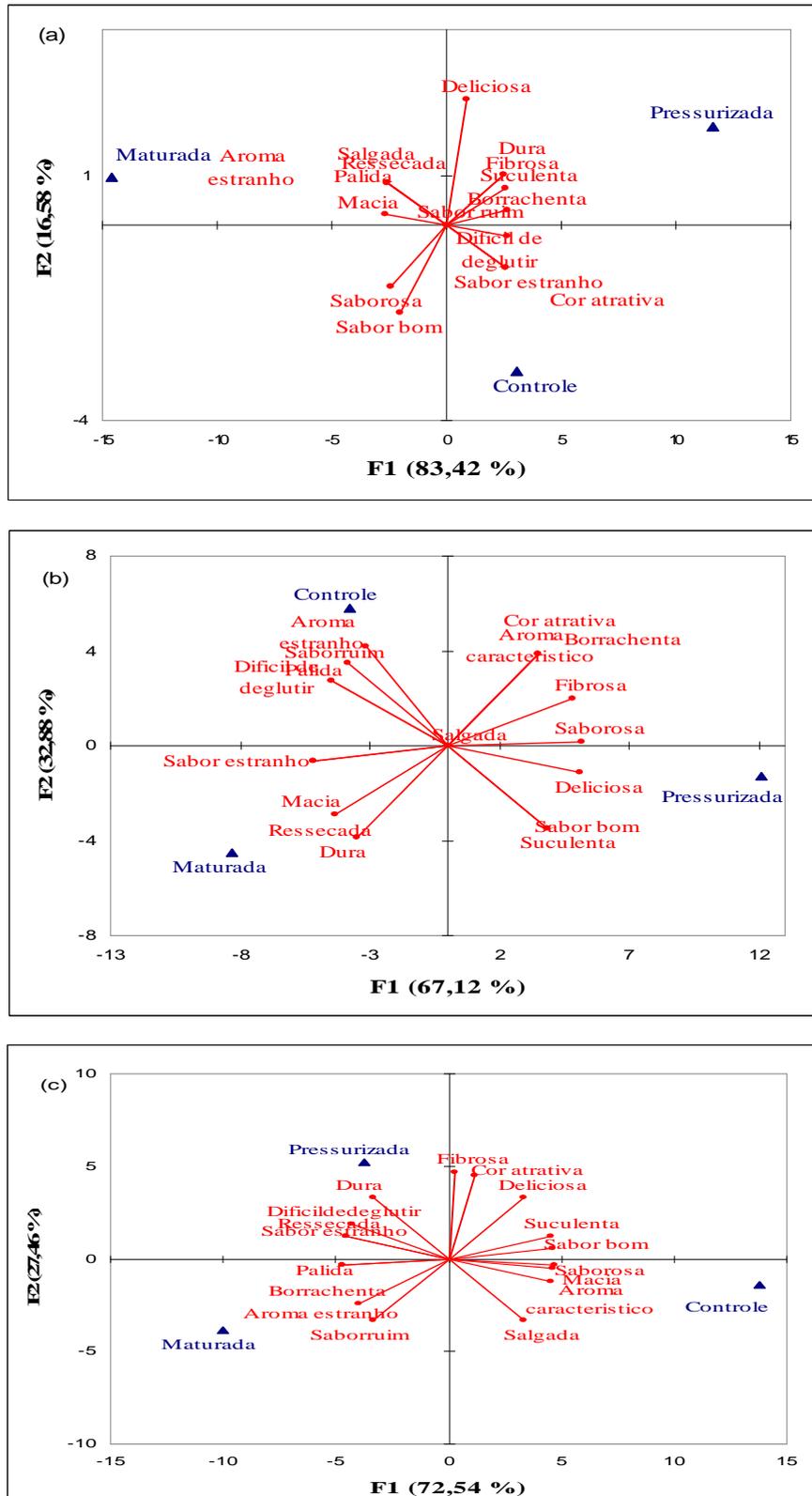
O segmento 1 atribuiu as maiores médias para a preferência das três carnes provenientes dos distintos processos, ou seja, foi o segmento que mais gostou das amostras.

Para eles a carne *in natura* foi descrita como sabor bom, saborosa, cor atrativa; enquanto a maturada foi principalmente caracterizada como aroma estranho, salgada, ressecada, macia e palida; e a pressurizada, a menos gostada dentre as três como dura, fibrosa, suculenta e borrachenta, porém deliciosa. Os consumidores do segmento 2 preferiram o produto pressurizado, o qual foi descrito principalmente como sabor bom, suculenta, deliciosa, saborosa e não gostaram da *in natura* e nem da maturada. A carne *in natura* foi mencionada como tendo aroma estranho, dificuldade de deglutir e sabor ruim; enquanto a maturada como macia, ressecada, dura e sabor estranho. A aparente incoerência no uso dos termos “macia” e “dura” para a mesma amostra (maturada) sugere, mais uma vez que a falta de concordância entre os participantes, mesmo após a segmentação.

Estes resultados sugerem que os consumidores que participaram do estudo não estavam habituados a consumir carne maturada e por isso não foram capazes de descrever adequadamente as carnes avaliadas. Talvez seja necessário trabalhar com consumidores treinados. Além disso, identificar a frequência de consumo de carne maturada (pois a pressurizada não está disponível no mercado) também teria contribuído para identificar melhor as diferenças entre elas.

Os dados demográficos revelaram a semelhança em relação à participação de homens (52%) e mulheres (48%) (Figura 7), porém com diferenças em relação ao número de indivíduos em cada faixa etária (Figura 8). O grau de escolaridade (Figura 9) dos participantes foi bastante elevado, pois 67,5% dos consumidores possuíam nível universitário e pós-graduação. A distribuição de renda (Figura 10) também variou na população estudada. Com relação ao consumo de carnes (Figura 6) a mais consumida é a bovina (62,50%), seguida da carne de frango (22,50%), de pescados (8,75%) e suína (6,25%). Quanto ao consumo, (Figura 11) 67,50% os consumidores declararam consumir carne bovina de 2 a 4 vezes na semana.

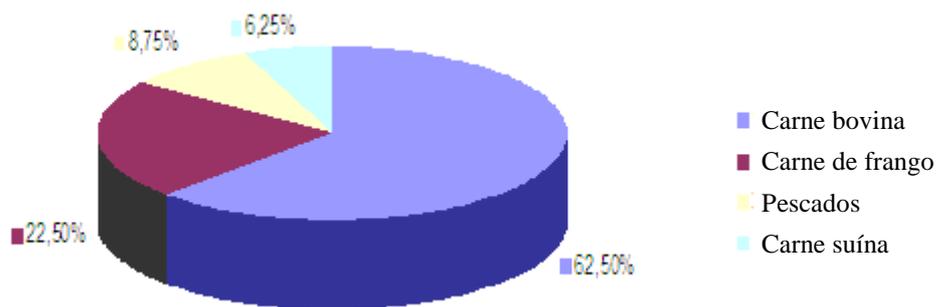
No Brasil, existe uma estimativa de que 58% dos habitantes consomem carne bovina algumas vezes por semana (RODRIGUES, 2009), o que também foi observado neste trabalho onde 82,25% dos consumidores consultados declaram consumir carne bovina mais de duas vezes por semana.



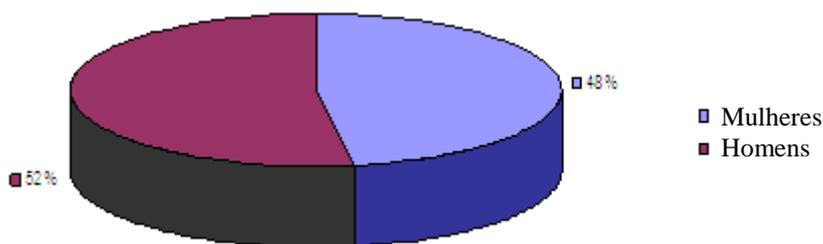
**Figura 5.** MFA das respostas geradas no CATA para os três tratamentos da carne bovinas (*Longissimus dorsi*) considerando os três segmentos de consumidores, sendo: (a) segmento 1 (n=38); (b) segmento 2 (n=17); (c) segmento 3 (n=16).

Em relação a distribuição de renda e consumo de carne o presente estudo se assemelha ao de Novaes et al. (2006), onde eles trabalhando com análise de consumidor , aplicaram 1545 questionários em quatro capitais brasileiras, e encontraram uma maior frequência de consumo de carne bovina, declarada por consumidores com renda familiar entre 8 e 10 salários mínimos mensais.

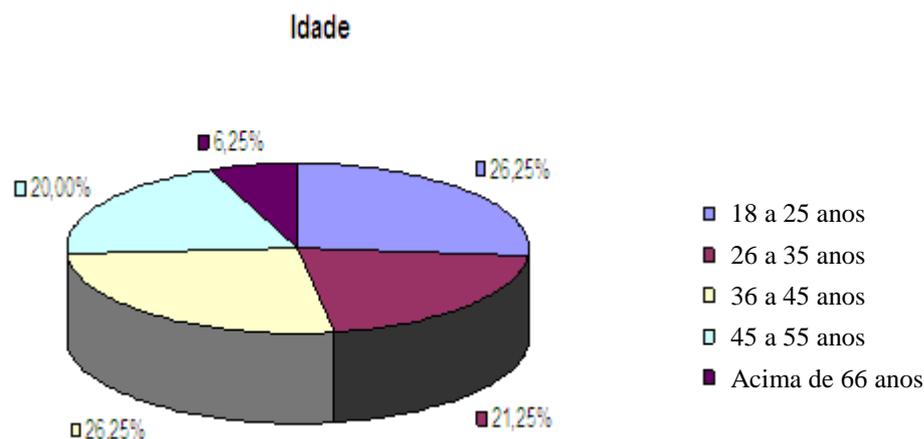
Rodrigues (2009) trabalhando com análise de consumidores de carne, em Vitória-ES, encontraram resultados semelhantes ao do presente trabalho, onde a ordem de preferência de consumo de carnes foi bovina (49,74%), seguida da carne de frango (21,24%), de pescados (24,36%) e suína (4,66%), mostrando a superioridade de escolha para consumo da carne bovina.



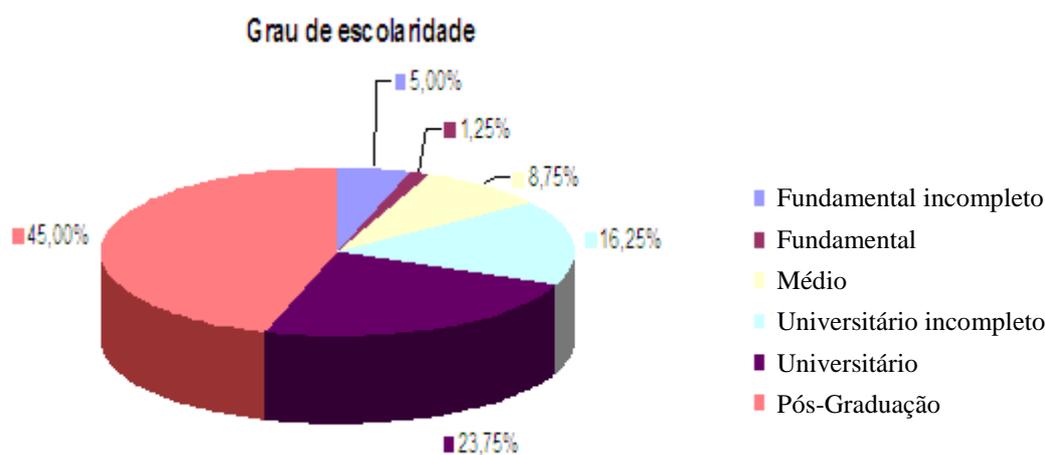
**Figura 6.** Perfil do consumo de carnes dos consumidores participantes da avaliação sensorial.



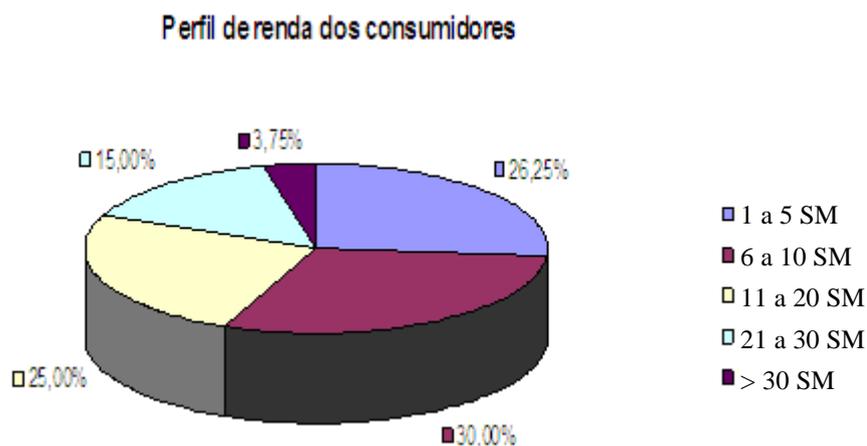
**Figura 7.** Distribuição por sexo dos consumidores participantes da avaliação sensorial.



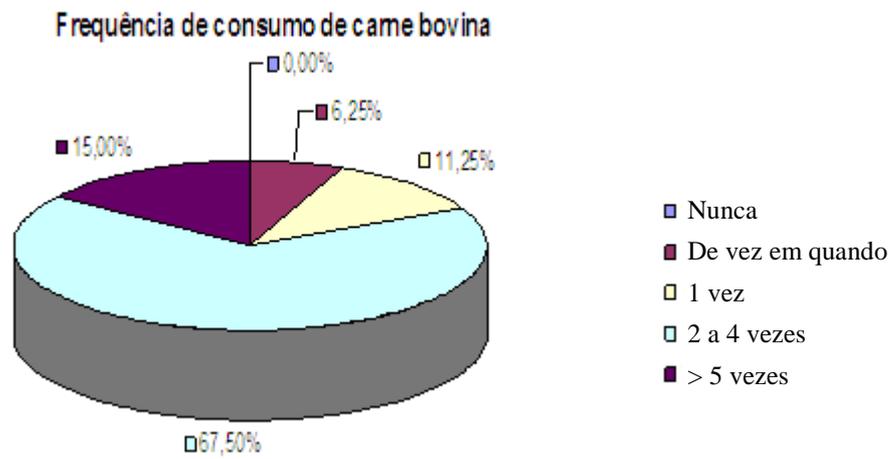
**Figura 8.** Distribuição por idade dos consumidores participantes da avaliação sensorial.



**Figura 9.** Distribuição por grau de escolaridade dos consumidores participantes da avaliação sensorial.



**Figura 10.** Distribuição por renda, em salários mínimos (SM), dos consumidores participantes da avaliação sensorial. Salário mínimo do mês de junho de 2011, R\$ 545,00 (quinhentos e quarenta e cinco reais).



**Figura 11.** Frequência semanal de consumo de carne bovina dos consumidores participantes da análise sensorial.

## 5 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos a partir dos experimentos realizados no presente estudo, bem como na discussão realizada, pode-se concluir:

- Aplicação de alta pressão até 200 MPa resultou em maior maciez e menor perda de cozimento em relação a carne *in natura* não tratada, retratada pela menor força de cisalhamento para ruptura e pelo maior índice de fragmentação miofibrilar, bem como na manutenção da coloração próxima à da carne original.
- Maiores níveis de APH (na faixa de 300 a 400 MPa) promoveram gradativamente a redução da maciez da carne de Nelore (*Longissimus dorsi*), com base no aumento da força de cisalhamento requerida para sua ruptura, bem como acarretou o aumento da perda de peso por cozimento e uma coloração esbranquiçada na carne.
- O perfil de proteínas não foi alterado pelo tratamento a 200 MPa, nem pela maturação convencional.
- A APH e a maturação convencional alteraram significativamente o teor de ácidos graxos da carne bovina de Nelore (*Longissimus dorsi*).
- Os resultados das análises instrumental e sensorial para o atributo textura não apresentaram correlação entre si, provavelmente pelos provadores sem treinamento.
- Os processos de APH e maturação convencional não influenciaram a preferência geral dos consumidores, porém estes preferiram a textura das carnes *in natura* e maturada.
- A tecnologia de alta pressão hidrostática pode ser um método eficiente para amaciamento da carne bovina de Nelore (*Longissimus dorsi*), com tempo reduzido em relação à maturação convencional, e pequena alteração nas características em comparação a carne *in natura*, porém outros estudos são necessários para avaliação mais aprofundada da aceitação do consumidor, notadamente para o mercado para exportação.

## 6 SUGESTÃO PARA NOVOS ESTUDOS

A partir dos resultados obtidos no presente estudo podemos indicar como sugestão para estudos futuros:

- Avaliação mais aprofundada no teor de ácidos graxos na carne bovina pressurizada (200MPa) e maturada.
- Avaliação sensorial da carne de bovino Nelore Pressurizada (200 MPa) e maturada convencionalmente, com provadores treinados (brasileiros e europeus).
- Análise de hidroxiprolina da carne pressurizada (200MPa) de bovinos Nelore para determinação do efeito da APH sobre a solubilidade do colágeno.
- Avaliação microbiológica da carne pressurizada (200MPa) de bovinos Nelore para determinação da validade comercial.
- Avaliação da atividade das enzimas lisossomais (catepsinas).

## 7 ANEXOS

**Anexo 1.** Ficha utilizada para coleta dos dados demográficos e consumo de carne bovina.

### ESTUDO SOBRE CARNE BOVINA

Consumidor: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Sexo:  feminino  masculino

Idade:  18-25  26-35  36-45  46-55  56-65  > 66

Grau de escolaridade:

fundamental incompleto  fundamental  médio  universitário incompleto  
 universitário  pós-graduação

Renda familiar mensal: (SM: Salário mínimo = R\$ 510,00)

1 a 5 SM  >5 a 10 SM  >10 a 20 SM  >20 a 30 SM  >30 SM

Qual tipo de carne você mais consome? Por favor, especifique usando 1 para a mais consumida, 2 para a segunda mais consumida, etc.

bovina  de frango  de pescados  suína

Qual a frequência com que você consome **carne bovina**?

nunca  de vez em quando  1 vez por semana  2-4 vezes por semana  
 mais que 5 vezes por semana

**Anexo 2.** Ficha utilizada para coleta dos dados de preferência e dados CATA.

### FICHA DE AVALIAÇÃO – ESTUDO SOBRE CARNE BOVINA

Consumidor: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

Você vai receber três amostras de **carne BOVINA grelhada**. Por favor, prove cada amostra e responda as perguntas solicitadas. Quando terminar, tome um pouco de água e depois avalie a amostra seguinte.

Amostra N° \_\_\_\_\_

Quanto **gostou** dessa carne?

**Desgostei muito** **Nem gostei e nem desgostei** **Gostei muito**

Quanto **gostou** da TEXTURA dessa carne?

**Desgostei muito** **Nem gostei e nem desgostei** **Gostei muito**

Marque todas as palavras que considera adequadas para descrever essa carne:

Macia ( )	Deliciosa ( )
Suculenta ( )	Salgada ( )
Saborosa ( )	Pálida ( )
Fibrosa ( )	Ressecada ( )
Sabor estranho ( )	Sabor ruim ( )
Dura ( )	Cor atrativa ( )
Aroma característico ( )	Difícil de deglutir ( )
Borrachenta ( )	Aroma estranho ( )
Sabor bom ( )	

**Obrigado pela sua participação!**

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCZ. Associação Brasileira dos Criadores de Zebu. 1938. Apresenta textos raças zebuínas criadas no Brasil. Disponível em <[http:// www.abcz.org.br](http://www.abcz.org.br) > Acesso em: 27 nov. 2008.
- ABERLE, E.D.; FORREST, J.C.; GERRARD, D.E.; EDWAR, W. M. *Principles of meat science*. 4 ed. Iowa: Kendall/Hunt Publishing Company,. 2001, 354p.
- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias exportadoras de Carne, dezembro de 2010. Disponível em [HTTP://www.abiec.com.br](http://www.abiec.com.br) . Acesso em 10 de julho de 2011.
- ABNT. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas – NBR 12806. Rio de Janeiro: ABNT, p.8, 1993.
- ADAMS, J., WILLIAMS, A., LANCASTER, B. FOLEY, M. Advantages and uses of check-all-that-apply response compared to traditional scaling of attributes for salty snacks. **7th Pangborn Sensory Science Symposium**, 12–16 August 2007. Minneapolis, MN, USA. 2007.
- 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.
- AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. *Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness of Fresh Meat*. **American Meat Science Association and National Livestock and Meat Board**, Chicago, IL. 1995.
- ANSTINE, T.T. High pressure processing for safe. Quality Foods. *Cereal Food World*, v.48, p.5-8, 2003.
- ARRIGONI, M.D.B. Eficiência produtiva de bovinos de corte – Modelo Biológico Super precoce: Desenvolvimento de linha de pesquisa apresentada para obtenção do título de livre-docente. Botucatu, FMVZ/UNESP, 2003, 428p.
- ASGHAR, A.; YEATES, N.T.M. The mechanism for the promotion of tenderness in meat during the post-mortem process: a review. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, v. 10, n. 2, p. 115-145, 1978.
- BANDMAN, E.; ZDANIS, D. An immunological method to assess protein degradation in post-mortem muscle. *Meat Science*, 22, p. 1-19, 1988.
- BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; RODRÍGUEZ, J.J. Update on nonthermal food processing technologies, irradiation and ultrasound. *Food Australia*, Australia, v.54, p.11, 2002.
- BIANCHINI, W.; SILVEIRA, A.C.; MARTINS, C.L.; CHARDULO, L.A.L.; CERVIERI, R.C.; RODRIGUES, E.; VARGAS, A.F.; TAVEIRA, R.Z. Maciez e tempo de maturação da carne de bovinos Nelore, Angus e Brangus superprecoces. **In: ZOOTECA 2004**, 2004, Brasília. Anais do ZOOTECA 2004, 2004.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipids extraction and purification.

*Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v.37, p. 911-917, 1959.

BOWKER, A.C.; FAHRENHOLZ, T.; 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.

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

BRIDGMAN, P.W. The coagulation of albumen by pressure. **Proceedings...** American Academy of Arts and Sciences XLIX, p. 627, 1914.

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.

BULTOT, D.; DUFRASNE, I.; CLINQUART, A.; HOQUETTE, J.L.; ISTASSE, L. Performances and meat quality of Belgian Blue, Limousin and Aberdeen Angus bulls fattened with two types of diet. **In: Proceedings of the Teme Renc. Rech. Ruminant**. Paris, p. 271, 2002.

BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging Technologies: chemical aspects. *Food Research International*, v.35, p.279-284, 2002.

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.

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.

CASEY, M. A; KRUEGER, R. A. Focus Group Interviewing. In: MacFIE, H.J.H.; THOMSON, D.M.H. **Measurement of Food Preferences**. Ed. Blackie Academic & Professional, p. 77-97, 1994

CECCHI, H.M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**, Editora da Unicamp: Campinas, 1999, 112p.

CERVIERI, R.C.; ARRIGONI, M.B.; MARTINS, C.L.; OLIVEIRA, H.N.; CHARDULO, L.A.L.; SILVEIRA, A.C.; CUCKI, T.O. Desempenho de bovinos superprecoce Angus-Nelore suplementados com somatotropina bovina recombinante (rbST).. **In: VII Mostra Científica da FMVZ**, 2003, Botucatu. Anais da VII Mostra Científica da FMVZ. 2003.

CHARDULO, L.A.L. **Desempenho, níveis plasmáticos de hormônios, expressão e quantificação de proteínas musculares, características de carcaça e qualidade de carne de bovinos inteiros jovens de cinco diferentes grupos genéticos submetidos a confinamento**. 101p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal. 2000.

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.; CURIOLI, J. Effects of high pressure on meat: a review. *Meat Science*, v.46, n. 3, p.211-236, 1997.

CHRISTENSEN, M.; LARSEN, L. M.; PURSLOV, P. P. The effect of exogenously added m-calpain on the mechanical properties of single muscle fibres extended to fracture. *In Proceedings 46<sup>th</sup> 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.

CONN, E.E.; STUMPF, P.K. **Introdução à bioquímica**. Tradução de: J. Reinaldo Magalhães e Lélia Mennucci. 4 ed., São Paulo: Edgard Blücher, 1980. 525p. Título original: Outlines of biochemistry.

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

CREIGHTON, T.E. Protein folding. *Biochemical Journal*, v. 270, n. 1, p. 1-16, 1990.

CREHAN, C.M.; TROY, D.J.; BUCKLEY, D.J. Effects of salt level and high hydrostatic pressure processing on frankfurters formulated with 1.5% and 2.5% salt. *Meat Science*, v.55, p.123-30, 2000.

CROUSE, J.D.; CUNDIFF, L.V.; KOCH, R.M.; KOOHMARAIE, 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, p. 2661-2668, 1989.

CULLER R.D.; PARRISH, F.C.; SMITH, G.C.; CROSS, H.R. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine *longissimus* muscle. *Journal of Food Science*, 43, 1177-80, 1978.

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

DE HEIJ, W.; VAN SCHEPDAEL, L.; VAN DEN BERG, R.; BARTELS, P. Increasing preservation efficiency and product quality through control of temperature distribution in high pressure applications. *High Pressure Research*, v. 22, p. 653-657, 2002.

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.

DELGADO, E.F. Fatores bioquímicos que afetam a maciez da carne. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 1., 2001, São Pedro. **Anais...** Campinas: CTC/ITAL, p. 143-159, 2001.

DELLA MODESTA, R.C. Manual de Análise sensorial de alimentos e bebidas. Tomo I, Tomo II e Tomo III. Rio de Janeiro: EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária)- CTAA, 1994. 245p.

DENOYELLE, C.; LEBIHAN, B. Intramuscular variation in beef tenderness. **Meat Science**. v.66, n. 1, p. 241-247, 2003.

DESTEFAINS, G.; BARGE, M. T.; BRUGIAPAGLIA, A.; TASSONE, S. The use of principal component analysis (PCA) to characterize beef. **Meat Science**, v. 56, n. 3, p. 255-259, 2000.

DOOLEY, L., LEE, Y.S.; MEULLENET, J.F. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food Quality and Preference**, v. 21, n. 4, p. 394-401, 2010.

DONSÍ, G.; FERRARI, G.; DI MATTEO, M. High Pressure Stabilization of Orange Juice: Evaluation of the effects of process conditions. **Italian Food & Beverage Technology VIII**: p. 10-14, 1996.

DRANSFIELD, E. Modeling post mortem tenderization-IV-Role of calpain and calpastatin in conditioning. **Meat Science**, v. 34, p. 217-234, 1993.

FARKAS, D.F.; HOOVER, D.G. High pressure processing. **Journal of Food Science**, Chicago, suplement, p.47-64, 2000.

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

FELÍCIO, P.E.; ALLEN, D.M.; CORTE, O.O. **Influencia da maturidade da carcaca sobre a qualidade da carne de novilhos Zebu**. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 12, n. 1, p. 137-149, 1982.

FELÍCIO, P.E. Fatores ante e post mortem que influenciam na qualidade da carne bovina. **In**: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. (Eds.) **Produção do Novilho de Corte**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luis de Queiroz", 1997. p. 79-97.

FENNEMA, O. R. **Química de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, p. 1095. 1993.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 5.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p.255-258.

FERNANDES, X.; TORNBERG, E. The influence of high temperature and differing ultimate pH on the course of rigor and ageing in pig *Longissimus dorsi* muscle. **Meat Science**, v. 36, n. 3, p. 345-363, 1994.

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.

FREITAS, M. Q. **Análise Sensorial de Alimentos**. Centro de Ciências Médicas, Faculdade de Veterinária, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2005, 81p.

GEAY, Y.; BAUCHART, D.; HOCQUETTE, J.F. et al. Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on diet value and sensorial qualities of meat. *Reproduction Nutrition Development*, v.41, n. 1, p. 1-26, 2001.

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.

GEESINK, G.H.; MAREKO, M.H.D.; MORTON, J.D.; BICKERSTAFFE, R. Electrical stimulation – when more is less. *Meat Science*, v.57, n. 2, p.145-151, 2001.

GOLL, D.E.; THOMPSON, V.F.; TAYLOR, R.G.; CHRISTIANSEN, J.A. Role of the calpain system in muscle growth. *Biochimie*, v. 74, p. 225–237, 1992.

GOUTEFONGEA, R.; DUMONT, J.P. Developments in low-fat meat and meat products. **In:** WOOD, J.D.; FISHER, A.V. **Reducing fat in meat animals**. London: Elsevier, cap. 9, p.398-436. 1990.

GOUTEFONGEA, R.; RAMPON, V.; NICOLAS, N.; DUMONT, J.P. (1995). Meat colorchanges under high pressure treatment. **In proceeding 41st international congress of meat science and technology** (p. 384-385). 20-25 August, 1995, San Antonio, Texas, USA.

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

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 973. 2002.

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

HITE, B.H. The effect of pressure on the preservation of milk. **West Virginia Agricultural Experimental Station Bulletin**, v. 58, p .15-35, 1899.

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.

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.

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.

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.

HOPKINS, D.L.; THOMPSON, J.M. Inhibition of protease activity 2: Degradation of myofibrillar proteins, myofibril examination and determination of free calcium levels. *Meat Science*, v. 59, n. 2, p. 199-209, 2001.

HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S. Mechanisms of water-holding capacity of meat: the role of post mortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, v. 71, n. 1, p. 194-204, 2005.

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.

HUIDOBRO, F.R.; MIGUEL, E.; ONEGA, E.; BLÁZQUEZ, B. Changes in meat quality characteristics of bovine meat during the first 6 days post mortem. *Meat Science*, v. 65, p. 1439-1446, 2003.

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.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, dezembro de 2006. Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em 10 de abril de 2008.

IFT – Institute of Food Technologists - Sensory Evaluation Division, 1994. *Journal of Food Science*, v.60, n.1, p.210-211, 1995.

JIMÉNEZ-COLMENERO, F.; COFRADES, S.; CARBALLO, J.; FERNÁNDEZ, P.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, 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.

JOO, S.T.; KAUFFMAN, R.G.; KIM, B.C.; PARK, 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.

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 vacuum. *Meat Science*, v. 69, n. 3, p. 441-449, 2005.

JOHNSON, D.D.; HUFFMAN, R.D.; WILLIAMS, S.E. Effects of percentage Brahman and angus breeding, age-season of feeding and slaughter end point on meat palatability and muscle

characteristics. *Journal of Animal Science*, v.68., n.7, p.1980-1986, 1990.

JOSEPH, J.D.; ACKMAN, R.G. Capillary column gas chromatography method for analysis of encapsulated fish oil and fish oil ethyl esters: collaborative study. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, v.75, n.3, p.588-506, 1992.

JUNG, S.; LAMBLERIE-ANTON, M.; GHOU, M. Textural changes in bovine meat treated with high pressure. *High Pressure Research*, New York, v. 19, n. 1-6, p. 69-74. 2000.

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

JUNG, S.; GHOU, M.; LAMBLERIE-ANTON, M. Influence of high pressures on the color and microbial quality of beef meat. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, Kidlington, v. 36, n. 6, p. 625-631, 2003.

JUNQUEIRA, J.O.B.; VELLOSO, L.; FELÍCIO, P.E. Desempenho, rendimentos de carcaça e cortes de animais, machos e fêmeas, mestiços Marchigiana x Nelore, terminados em confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.27, n. 6, p. 1199-1205, 1998.

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

KAUFFMAN, R.G.; MARSH, B.B. *Características de calidad del músculo como alimento. In Ciencia de la Carne y de los Productos Carnicos*. Ed. Price, J.F y Schweigert, B.S. 2ª ed. Acribia. Zaragoza (España): p.317-336, 1994.

KELLY, M.L.; BERRY, J.R.; DWYER, D.A. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *Journal of Nutrition*, v.128, p.881-885, 1998.

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

KERTH C.R.; BLAIR-KERTH, L.K.; JONES, W.R. Warner-Bratzler shear force repeatability in beef *Longissimus* steaks cooked with a convection oven, broiler, or clam-shell grill. *Journal of Food Science*, v. 68, n. 2, p. 668-670, 2003.

KIM, C.; HAO, Q.; GRUMER, S.M. High Pressure Cryocooling for Capillary Sample Cryoprotection and Diffraction Phasing at Long Wavelengths. *Acta Crystallographica*, v.63, n. 8, p. 653-659, 2007.

KIRSCHKE, H., KENBHAVI, A.A. BOHLEY, P.; BARRETT, A.J. Action of rat liver

cathepsin L on collagen and others substrates. *Biochemical Journal*, v. 201, p. 367-372, 1982.

KO. W.C.; HSU, K.C. Effect of high pressure strage on the processing quality of tilápia meat. *Trends in High Pressure Bioscience and Biotechnology*, v. 19, p.411-416, 2002.

KOCH, R.M.; CROUSE, J.D.; DIKEMAN, M.E.; CUNDIFF, L.V.; GREGORY, K.E. Effect of marbling on variation and change in beef tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* crosses. *Beef Research Progress Report*, v.71, p.63-68, 1993.

KOLCZAK, T.; POSPIECH, E.; PALKA, K. et. al. Changes of myofibrillar and centrifugal drip proteins and shear force of Psoas major and minor and Semitendinosus muscles from calves, heifers and cows during postmortem ageing. *Meat Science*, v. 64, n. 1, p. 69-75, 2003.

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

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.

KOOHMARAIE, M. Myofibril Fragmentation Index. <http://meats.marc.usda.gov> [03/02/2002]

KRIS-ETHERTON, P.; DANIELS, S.R.; ECKEL, R.H.; ENGLER, M.; HOWARD, B.V.; KRAUSS, R.M.; LICHTENSTEIN, A.H.; SACKS, F.; ST. JEOR, S.; STAMPFER, M.; GRUNDY, S.M.; ZOCK, P.L. AHA scientific statement: Summary of the scientific conference on dietary fatty acids and cardiovascular health (2001). *Journal of Nutrition*, v. 131, n. 4, p. 1322-1326, 2001.

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.

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

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

LEE, Y. B. Early *post mortem* measurements and conditioning in assessing and enhancing meat quality. *Journal of Animal Science*, v. 63, p. 622-630, 1986.

LOCKER, R. H.; WILD, D. J. C. Tenderization of meat by pressureheat involves weakening of the gap filaments in myofibrils. *Meat Science*, v. 10, n. 3, p. 207-233, 1984.

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.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina.** São Paulo: R. Vieira, 1 ed., 2000. 134p.

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.

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.

MACFARLANE, J. J. High pressure technology and meat quality. In: Lawine, R. A. (Ed.). **Developments in Meat Science**. London: Elsevier Applied Science, v. 3, p. 155-84, 1985.

MACFIE, H. J. Apostila de Curso - **Produto, Mercado e Inovação: Métodos Estatísticos Utilizados em Estudos de Consumidor**, Miramar Palace Hotel: Rio de Janeiro, Brasil, 2005. 291p.

MADRUGA, M.S.; NARAIN, N.; DUARTE, T. F. Características químicas e sensoriais de cortes comerciais de caprinos SRD e mestiços Bôer. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 713-719, 2004.

MANDAVA, R.; FERNANDEZ, I.; JUILLERAT, M. Effect of high hydrostatic pressure on sausage batters. *Proceedings of 40th International Congress of Meat Science and Technology*. S-VIB. 11, p. 1-6. The Hague, Holland. 2004.

MANTESE, F.D.G. **Transformação do músculo em carne**. Seminário Apresentado na disciplina de Bioquímica do tecido animal (VET00036) do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS. Primeiro Semestre, 2002.

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

MARSH, B.B. *Rigor mortis* in beef. *Journal Science Food Agriculture*, v. 5, n. 6, p. 70-75, 1954.

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.

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

MATSUISHI, M.; OKINATI, A. Proteasome from rabbit skeletal muscle: some properties and effects on muscle proteins. *Meat Science*, v. 45, p. 451-462, 1997.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. New York: Boca Raton, 2ª ed., p.5, 1991.

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.

MEULLENET, J.F.; LEE, Y.; DOOLEY, L. The application of check-all-that-apply consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **The 9th Sensometric Meeting**. The Sensometrics Society, St. Catherines, Ontario, Canada. 2008.

MILLAR, S.J., MOSS, B.W.; STEVENSON, M.H. The effect of ionizing radiation on the colour of beef, pork and lamb. *Meat Science*, v. 55, n. 5, p. 349-360, 2000.

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. *Science des Aliments*, v.5, n. 2, p. 341-345, 1985.

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.

MUSSA, D. M. **High pressure processing of milk and muscle foods: evaluation of process kinetics, safety and quality changes**. Thesis, McGill University, Canadá. 1999. 264p.

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.

NIVER, G.W.; MILLES, C.A.; MACKEY, B.M. The effects of hydrostatic pressure on ribosome conformation in *Escherichia coli*: an in vivo study using differential scanning calorimetry. *Microbiology*, v. 145, p. 419-425, 1999.

NOVAES A.L.; SPROESSER R.L.; SOUZA, P.A.R.; MOURAD, C.B.; TRDEZINI, C.A.O. Efeito do Nível de Escolaridade no Consumo de Carne Bovina e Hortaliças no Brasil. **In: XLIV CONSGRESSO DA SOBER**. P. 1-12, Fortaleza, 2006.

OLIVEIRA, A. L. **Qualidade da carne bovina**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, EPAMIG, v. 21, n.205, p.39-47, jul./ago, 2000.

OLIVEIRA, A.F. Avaliação sensorial dos alimentos. Curso de Tecnologia de Alimentos - UFTPR, Londrina, 2010. 54p.

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

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 Orígem**

**Animal.** Porto Alegre-RS: Artmed. v.2, 2005. 279p.

OTREMBIA, M.M.; DIKEMAN, M.E.; MILIKEN, G.A.; STRODA, S.L.; UNRUH, J.A.; CHAMBERS I.V.E. Interrelationships among evaluations of beef longissimus and semitendinosus muscle tenderness by Warner-Bratzler shear force, a descriptive texture profile sensory panel, and a descriptive attribute sensory panel. *Journal of Animal Science*, v. 77, n. 4, p. 865-873, 1999.

PAGÈS, J. Collection and analysis of perceived product inter-distances using multiple factor analysis: Application to the study of 10 white wines from the Loire Valley. *Food Quality and Preference*, v.16, n. 7, p. 642-649, 2005.

PALMIERI, L.C. **Estudo do envelhecimento 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. 623p.

PATTERSON, M.F.; QUINN, M.; SIMPSON, R.; GILMOUR, A. Sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in phosphate buffered saline and foods. *Journal of Protection*, v.58, n.5, p.524-529, 1995.

PEARSON, A.M.; GRAY, J.I.; WOLZAK, A.M.; HORENSTEIN, N.A. Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. *Food Technology*, v. 37, n. 7, p. 121-129, 1983.

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

PEDREIRA A.C.M.S. **A maturação como técnica de amaciamento da carne.** Obtido em 10/02/2006. Site: [www.aptaregional.sp.gov.br/artigo.php?id\\_artigo=196](http://www.aptaregional.sp.gov.br/artigo.php?id_artigo=196)

PELLIETIER, B. High pressure treatment for fruit juice. New solutions for low-cost high pressure processing of fruit juice. *Fruit Processing*, v.6, p.216-217, 2001.

POPPER, R., ROSENTOCK, W., SCHRAIDT, M. KROLL, B.J. The effect of attribute questions on overall liking ratings. *Food Quality and preference*, v. 15, n. 7, p. 853–858, 2004.

PUGA, D.M.U.; CONTRERAS, C.J.C.; TURNBULL, M.R. Avaliação do amaciamento de carne bovina de dianteiro (Triceps brachii) pelos métodos de maturação, estimulação elétrica, injeção de ácidos e tenderização mecânica. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 19, n. 1, p. 88-96, 1999.

PUTRINO. S.M. **Composição corporal, exigências de energia e proteína para ganho e composição da carne de novilhos Nelore alimentados com dietas com milho grão seco ou úmido contendo gordura não degradável no rúmen.** Tese (doutorado). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA).Universidade de São Paulo. São Paulo. 2006. p. 100.

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.
- PRICE, M.C.; SCHWIGERT, B.S. *Ciencia de La Carne y de Los Productos Carneos*. Zaragoza: Editora Acribia, 1994. 581p.
- QUALI, A. Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. *Biochemich*, v. 74, n. 3, p. 251-265, 1992.
- REDMOND, G.A.; MCGEEHIN, B.; SHERIDAN, J.J.; BUTLER, F. The effect of ultra-rapid chilling and subsequent ageing on the calpain/calpastatin system and myofibrillar degradation in lamb M. *Longissimus thoracis et lumborum*. **Meat Science**, v. 59, n. 3, p. 293-301, 2001.
- RESTLE, J.; VAZ, F.N.; ALVES FILHO, D.C. Machos não-castrados para a produção de carne. In: RESTLE, J. (Ed.) *Confinamento, pastagens e suplementação para produção de bovinos de corte*. Santa Maria: UFSM. p.215-231, 1999.
- RIFFERO, L. M., HOLMES, Z. A. Characteristics of pre-rigor pressurized versus conventionally processed beef cooked by microwave and by boiling. **Journal of Food Science**, v. 48, n. 2, p. 346-350, 1983.
- RODBOTEN, M.; KUBBEROD, E.; LEA, P. et al. A sensory map of the meat universe. Sensory profile of meat from 15 species. **Meat Science**. v.68, p.137-144, 2004.
- RODRIGUES, S.D. **Consumo e perfil do consumidor de carne bovina in natura na grande Vitória**. Trabalho Monográfico de Conclusão do Curso de Pós-Graduação Lato Sensu, Vitória, UCB, 2009. p. 68.
- ROÇA, R.O. **Tecnologia da carne e produtos derivados**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, 2000. 202p.
- ROSS, M.H.; ROMPELL, L.J.; REITH, E.J. **Histologia: Texto e Atlas**. 2ed. São Paulo: Panamericana, Cap.10, p. 203-209, 1993.
- ROVERE, P. The third dimension of food technology. **Tecnologie Alimentari Sistemi per produrre**, v.4, p.2-8, 1995.
- RUBENSAM, J.M.; FELÍCIO, P.E.; TERMIGNONI, C. Influência do genótipo *Bos indicus* na atividade de calpastatina e na textura da carne de novilhos abatidos no sul do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.4, p. 405-409, 1998.
- RUBENSAM, J.M.; MONTEIRO, E.M. Maciez e atividade de calpastatina em carne bovina. **Documentos CPPSul/EMBRAPA**, n. 28, 2000. 53p.
- SÁ, E. M. F. A Influência da Água nas Propriedades da Carne- Parte II. **Revista Nacional da Carne**. Ed. Dipemar, n. 325, 2004.
- SAINZ, R.D. Qualidade das carcaças e da carne bovina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DAS RAÇAS ZEBUÍNAS, 2, 1996, Uberaba. **Anais...** Uberaba: ABCZ, 1996. (não paginado).

SAN MARTÍN, M.F.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; SWANSON, B.G. Food processing by high hydrostatic pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.42, n. 6, p. 627-645, 2002.

SANTOS, C.D. dos; ABREU, C.M.P. de; CORRÊA, A.D.; PAIVA, L.V. **Curso de química: bioquímica**. Lavras: UFLA/FAEPE, modulo 6. p. 237, 1999.

SARGIANOS, N.; GAITANAKI, C.; DIMITRIADIS, B.; BEIS, I. Proteolytic 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.

SASAKI, K.; MOTOYAMA, M.; YASUDA, J.; YAMAMOTO, T.; OE, M., NARITA, T.; IMANARI, M.; FUJIMURA, S.; MITSUMO, M. Beef texture characterization using internationally established texture vocabularies in ISO5492:1992: Differences among four different end-point temperatures in three muscles of Holstein steers. *Meat Science*, v. 86, p. 422-429, 2010.

SCHEIBENZUBER, M.; RUB, W.; GORG, A.; MEYER-PITTRUFF, R. Scanning electron microscopic study of high pressure induced microstructural changes of proteins in turkey and pork meat. *High Pressure Bioscience and Biotechnology*, 2002. p. 490.

SHIGEHISA, T., OHMORI, T., SAITO, A., TAJI, S., HAYASHI, R. Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms associated with meat and meat products. *International Journal of Food Microbiology*, v.12, p.207-216, 1991.

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

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, R.G.; PRADO, I.N. do; 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.

SILVEIRA, A.C. Produção de Novilho Super precoce. *Anais... II Simpósio de produção de Gado de Corte*. p. 37-54. Viçosa-MG. 2001.

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

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.

- 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.
- 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. 219-222, 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*. 54:3085–3091. 1990.
- SWATLAND, H.J. *Estructura y desarrollo de animais de abasto*. Espanha: Ed. Acribia. 1984. p. 443.
- 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.
- TAYLOR, R.G., GEESINK, G.H., THOMPSON, V.F., KOOHMARAIE, M. and GOLL, D.E. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? *Journal of Animal Science*. v. 73, n. 5, p. 1351–1367, 1995.
- VARDAG, T.; DIERKES, H.; KÖRNER, P. High Pressure food processing. *Food Tech Europe*, v. 3, n. 2, p. 106-110, 1995.
- 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.
- WALLACE, C. D.; MORGAN, J. B.; GUENTHER, L. L.; NOVOTNY, K. K. DOLEZAL, H. G.; RAY, F. K. Effect of freezing method and calcium chloride injection on beef *Longissimus* muscle tenderness. *Animal Science Rasearch Report*, p. 72-77, 1999.
- WILLIAMS, A. New Technologies in Food Preservation and Processing: Part II. *Nutrition & Food Science*, v. 94, n. 1, p. 20-23, 1994.
- WHEELER, T. L.; SAVELL, J. W.; CROSS, H. R., et al. 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.; KOOHMARAIE, M. Prerigor and *post rigor* changes in tenderness of ovine *Longissimus* muscle. *Journal of Animal Science*, v. 72, n. 5, p.1232-1238, 1994.
- 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.
- WOOD, J.D. Consequences for meat quality of reducing carcass fatness. In: WOOD, J.D.; FISHER, A.V. *Reducing fat in meat animals*. London: Elsevier, cap. 8, p. 344-397, 1990.
- 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.

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.

YOKOTA, L. G.; SANTOS, G. B.; CAVALETTI, M.; SPIM, J. S.; RAMOS, P. R. R. Degradação miofibrilar no músculo *Longissimus dorsi* de bovinos de dois grupos genéticos, submetidos a três tempos de resfriamento. **45ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, p. 1-3, Lavras – MG, 2008.

YU, L. H.; LEE, E. S.; JEONG, H. D.; PAIK, H. D.; CHOI, J. H.; KIM, C.J. Effects of thawing temperature on the physicochemical properties of pre-rigor frozen chicken breast and leg muscles. *Meat Science*, v. 71, n. 2, p. 375-382, 2005.

ZAMORA, F.; DEBITO, E.; LEPETIT, J.; LEBERT, A.; DRANS.ELD, E.; OUALI, A.; predicting variability of ageing and toughness in beef M. *Longissimus luborun et thoracis*. *Meat Science*. v.43, p.321-333, 1996.

ZIMMERMAM, F.; BERGMAN, C. Isostatic high-pressure equipment for food preservation. *Food Technology*, v. 47, n. 6, p. 162-163, 1993.