**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Suplementação de vitamina D₃ na dieta e exposição à luz solar alteram cor e fragmentação miofibrilar da carne de *Bos indicus* sem causar impacto no desempenho e maciez

Adalfredo Rocha Lobo Júnior

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens**

**Piracicaba
2008**

Adalfredo Rocha Lobo Júnior
Zootecnista

Suplementação de vitamina D₃ na dieta e exposição à luz solar alteram cor e fragmentação miofibrilar da carne de *Bos indicus* sem causar impacto no desempenho e maciez

Orientador:
Prof. Dr. EDUARDO FRANCISQUINE DELGADO

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens**

**Piracicaba
2008**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Lobo Júnior, Adalfredo Rocha

Suplementação de vitamina D₃ na dieta e exposição à luz solar alteram cor e fragmentação miofibrilar da carne de *Bos indicus* sem causar impacto no desempenho e maciez / Adalfredo Rocha Lobo Júnior. - - Piracicaba, 2008.

71 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Cálcio 2. Carcaça 3. Carnes e Derivados 4. Dieta animal 5. Suplementação vitamínicas para animais 6. Vitamina D I. Título

CDD 636.2084
L122s

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Dedico

À DEUS

e

A minha esposa maravilhosa, Alessandra Aparecida Silva, sempre do meu lado nos momentos de sofrimento, luta, angústias e vitórias

Aos meus preciosos filhos, Maria Eduarda e Victor Hugo, por serem a alegria da minha casa e minha alma

Aos meus pais, Adalfredo Rocha Lobo e Maria Elice da Silva Lobo, por me amarem sempre

*Especialmente a minha tia, Eunice Rocha Lobo, coração grande e maravilhoso
Que Deus lhe pague!*

*Por fim, à todos os papais e mamães que corajosamente enfrentam esta batalha (Pós-graduação)
Nós somos diferenciados*

AGRADECIMENTOS

A Deus, cujo foi o autor da força, resistência, coragem, ânimo, raciocínio e suporte para a realização deste trabalho.

Ao orientador, Prof. Dr. Eduardo Francisquine Delgado, pela a sua capacidade brilhante em formular idéias, raciocinar e principalmente pelo seu diferencial, humanidade, mesmo no meio científico.

A Dra. Aparecida Carla de Moura Silveira Pedreira, a pessoa responsável por idealizar esta pesquisa.

Aos pesquisadores Dr. Alexandre Berndt e Dr. João Assunção Dermachi, da APTA - Pólo regional extremo-oeste (Andradina/SP), os quais generosamente cederam o local (confinamento), para a execução do experimento à campo, colaborando também na resolução dos problemas no meio do percurso.

Ao Prof. Dr. Gérson Moura Barros, por buscar conosco a forma mais correta de tratar os dados durante as análises estatísticas, dispondo de muita paciência e gentileza.

Aos professores de Fisiologia Animal, Dr. Raul Machado Neto e Dr. Raul D'Arce, admirados pela competência e excelência na formação dos alunos, e por isso são exemplos para nós.

Ao Prof. Dr. João Francisco Escobedo, pertencente ao campus de Botucatu da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), por auxiliar nas questões envolvidas com raios solares e sombrite.

A todos os funcionários, que trabalham na Fazenda do Estado (pertencente a APTA regional extremo-oeste), principalmente Adércio e Celso, presentes e fundamentais durante todo o experimento à campo.

À FAPESP (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo), por ser o órgão financiador deste trabalho.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa de estudo concedida durante o Curso de Mestrado.

A pecuarista, Luzia Regina Camargo Regazzo, por fornecer os animais para o experimento.

A empresa ROCHE e NUTRON por cederem vitamina D₃ e suplemento mineral e vitamínico, respectivamente.

Aos colegas do Laboratório de Anatomia e Fisiologia Animal (LAFA), Eric Leonardo Franchi, Ivan Stella, Carolina de Castro Santos, Flávia Rafaela Santos e Ingrid Monteiro Medina.

Especialmente a Priscila Roberta do Santos, a qual menos esperava auxílio, foi fundamental para o meu processo de aprendizado e treinamento no laboratório.

À técnica responsável do laboratório de Nutrição e Crescimento Animal, Maria Antonia Etchegaray (Tuka) e às colegas Anali Linhares Lima, Patrícia Pauletti, Débora Botéquio.

A equipe do setor de Zoologia, José Luiz, Vera, Cleiton, Rodinei, Pé vermelho.....

E, à todos que contribuíram direta e/ou indiretamente para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Adalfredo Rocha Lobo Júnior, filho de Adalfredo Rocha Lobo e Maria Elice da Silva Lobo, nasceu em Apucarana – PR, em 16 de junho de 1982.

Concluiu o Curso de Graduação em Zootecnia, na Universidade Estadual de Maringá (UEM), no final de 2005.

Em 2006, iniciou o Curso de Mestrado em Ciência Animal e Pastagens na área de Agronomia, na melhor Instituição da América Latina, conhecida como Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pertencente à Universidade de São Paulo, sob a orientação do Prof. Dr. Eduardo Francisquine Delgado, trabalhando no foco de Fisiologia Animal e Qualidade de Carne.

*Mas a sabedoria, de onde sai ela?
Onde está o jazigo da inteligência?*

*O homem ignora o caminho dela,
ninguém a encontra na terra dos vivos.
O abismo diz: “Ela não está em mim.”
“Não está comigo”, diz o mar.
Não pode ser adquirida com ouro maciço,
não pode ser comprada a peso de prata.
Não pode ser posta em balança com o ouro de Ofir,
com o ônix precioso ou a safira.
Não pode ser comparada nem ao ouro nem ao vidro,
ninguém a troca por vaso de ouro fino.
Quanto ao coral e ao cristal, nem se fala,
a sabedoria vale mais do que as pérolas.
Não pode ser igualada ao topázio da Etiópia,
não pode ser equiparada ao mais puro ouro.*

*De onde vem, pois, a sabedoria?
Onde está o jazigo da inteligência?*

*Um véu a oculta de todos os viventes,
até das aves do céu ela se esconde,
Dizem o inferno e a morte:
“Apenas ouvimos falar dela.”
Deus conhece o caminho para encontrá-la,
é ele quem sabe o seu lugar,
porque ele vê até os confins da terra,
e enxerga tudo o que há debaixo do céu.
Quando ele se ocupava em pesar os ventos,
e em regular a medida das águas,
quando fixava as leis da chuva,
e traçava uma rota aos relâmpagos,
então a viu e a descreveu,
penetrou-a e escrutou-a,
Depois disse ao homem: “O temor ao Senhor, eis a sabedoria;
fugir do mal, eis a inteligência.”*

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	12
Referências.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 Vitamina D ₃	17
2.2 Metabolismo da vitamina D ₃ e seus metabólitos no organismo.....	17
2.3 Vitamina D ₃ e seus metabólitos relacionados com exposição solar.....	19
2.4 Vantagens e desvantagens da suplementação de vitamina D ₃	20
2.5 Efeito das dosagens de vitamina D ₃ no cálcio plasmático.....	20
2.6 Amaciamento da carne mediado pela Vitamina D ₃ e seus metabólitos.....	21
2.7 Coloração da carne mediado pela vitamina D ₃ e seus metabólitos.....	22
2.8 Relação de maciez e cor na carne.....	22
Referências.....	24
3 VITAMINA D ₃ NA DIETA E EXPOSIÇÃO À LUZ SOLAR NÃO ALTERAM DESEMPENHO DE BOVINOS CONFINADOS	
Resumo.....	29
Abstract.....	29
3.1 Introdução.....	30
3.2 Material e Métodos.....	31
3.3 Resultados e Discussão.....	36
3.4 Conclusão.....	42
Referências.....	43
4 QUALIDADE DA CARNE DE <i>Bos indicus</i> É ALTERADA PELA VITAMINA D ₃ NA DIETA E EXPOSIÇÃO À LUZ SOLAR SEM INCREMENTO NA MACIEZ	
Resumo.....	44
Abstract.....	45
4.1 Introdução.....	45
4.2 Material e Métodos.....	47
4.3 Resultados e Discussão.....	53
4.4 Conclusão.....	66

Referências.....	66
------------------	----

RESUMO

Suplementação de vitamina D₃ na dieta e exposição à luz solar alteram cor e fragmentação miofibrilar da carne de *Bos indicus* sem causar impacto no desempenho e maciez

A melhoria na maciez da carne bovina através de suplementação de vitamina D₃ na dieta tem sido desafiada por relatos de ineficácia do tratamento pré-abate e ainda possíveis impactos negativos no desempenho animal. A vitamina D₃ pode ser sintetizada no animal por ação de radiação ultravioleta (UV) da luz solar, atingindo produção máxima em condições de baixa latitude. Este trabalho teve o objetivo de verificar a possível interação da suplementação de vitamina D₃ na dieta com a exposição à luz solar dos animais na modificação de variáveis de desempenho e implicações na qualidade de carne e carcaça de bovinos *Bos indicus*. Foram confinados 41 machos castrados Nelore ($\mu=411\pm38$ kg) por 45 dias, sendo divididos em 6 tratamentos: T1) Sem suplementação de vitamina D₃ (SV) ou sombrite (SS); T2) SV e com sombrite (CS - filtração de 50% de UV); T3) Com 2×10^6 UI de vitamina D₃ (CV2) por 2 dias consecutivos pré-abate + SS; T4) CV2 + CS; T5) CV por 8 dias consecutivos pré-abate (CV8) + SS; e T6) CV8 + CS. Mensurações *postmortem* foram realizadas no músculo *Longissimus dorsi*. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com arranjo fatorial 3 (dosagens de vitamina D₃) x 2 (condições de exposição à UV). Para as variáveis de desempenho animal nenhum efeito ($P>0,05$) foi encontrado. Menor espessura de gordura ($P=0,09$) e peso de carcaça quente ($P=0,08$) e resfriada ($P=0,10$) foram verificadas para T6 comparado com T5 ($1,8\pm0,6$ mm; $240,5\pm3,0$ e $236,6\pm3,0$ kg vs $3,4\pm0,6$ mm, $251,2\pm3,2$ e $246,1\pm3,2$ kg, respectivamente). Concentrações de cálcio ionizado plasmático no início e final da suplementação com vitamina não diferiram ($P>0,05$) entre os tratamentos. A dosagem CV8 aumentou a fragmentação ($P=0,09$) em animais SS comparado aos CS ($22,3\pm1,5$ vs $18,3\pm1,5$; respectivamente). Entretanto, os animais SS apresentaram menores concentrações de cálcio muscular total ($P<0,05$) quando comparados aos CS. Nenhum efeito foi verificado em força de cisalhamento, sendo as diferenças observadas ($P<0,05$) somente para os dias de maturação 1, 7 e 21 ($10,4\pm0,5$; $8,8\pm0,5$ e $6,8\pm0,5$ kgf, respectivamente). Os animais CS apresentaram carcaças com menores temperaturas ($15,07\pm0,29^\circ\text{C}$; $P=0,05$) e maiores perdas totais ($28,9\pm0,5\%$; $P=0,06$). A dosagem CV8 foi eficiente para aumentar os valores de L^* ($P=0,065$), a^* ($P=0,02$) e b^* ($P<0,001$) comparado à CV2 ($32,3\pm0,5$; $17,0\pm0,4$ e $4,5\pm0,2$ vs $30,5\pm0,5$; $15,8\pm0,4$ e $3,5\pm0,2$; respectivamente). Para estes valores, a dosagem CV2 não diferiu ($P>0,05$) da dosagem SV ($31,6\pm0,5$; $15,5\pm0,4$ e $3,3\pm0,2$). Animais SS ($34,5\pm0,5$) apresentaram maiores valores ($P<0,05$) de L^* às 24 horas *postmortem* do que CS ($32,6\pm0,5$). Suplementação de vitamina D₃ na dieta e exposição solar não afetam desempenho animal e maciez da carne. Vitamina D₃ isoladamente pode alterar o padrão de cor da carne. A exposição à luz solar pode também melhorar a luminosidade da carne e interagir com a suplementação de vitamina D₃ na definição de fragmentação miofibrilar.

Palavras-chave: Cálcio; Características de Carcaça; Força de Cisalhamento; Sombreamento; Músculo *Longissimus*

ABSTRACT

Vitamina D₃ supplementation in the diet and sunlight exposure alter the beef color and myofibrillar fragmentation in *Bos indicus* without impact on animal performance and tenderness

The beef tenderness improvement through the vitamin D₃ supplementation in the diet has been challenged by inefficient results after pre-slaughter treatment and additionally possible negative impacts on the animal performance. The vitamin D₃ can be synthesized in the animal through the action of the ultraviolet (UV) radiation from the sunlight, reaching maximal production at low latitudes. This work aimed to verify the possible interaction between vitamin D₃ supplementation in the diet and sunlight exposure on the animal performance and their implications on the carcass and beef quality in *Bos indicus*. Forty-one Nellore castrated bulls ($\mu=411\pm38$ kg) were feedlot for 45 days, after being assigned to 6 treatments: T1) No vitamin D₃ supplementation (NV) or shade (NS); T2) NV with shade (WS – 50% UV filtration); T3) With 2×10^6 UI of vitamin D₃ for 2 days consecutive pre-slaughter (WV2) + NS; T4) WV2 + WS; T5) With 2×10^6 UI of vitamin D₃ for 8 days consecutive pre-slaughter (WV8)+ NS; and T6) WV8 + WS. The *postmortem* measures were taken in the *Longissimus dorsi* muscle. The experimental design used was completely randomized blocks with 3 (vitamin D₃ levels) x 2 (sunlight exposure conditions) factorial arrangements. There were no effect ($P>0.05$) on the performance variables. Lower fat thickness ($P=0.09$), hot ($P=0.08$) and cold ($P=0.10$) carcass weight were found for T6 compared to T5 (1.8 ± 0.6 mm; 240.5 ± 3.0 and 236.6 ± 3.0 kg vs 3.4 ± 0.6 mm, 251.2 ± 3.2 and 246.1 ± 3.2 kg, respectively). Plasma ionized calcium concentrations did not differ ($P>0.05$) between the treatments either before or after vitamin D₃ supplementation. The WV8 level increased the fragmentation ($P=0.09$) in NS animals with regard to the WS (22.3 ± 1.5 vs 18.3 ± 1.5 , respectively). However, the NS animals presented the lower total muscle calcium concentration ($P<0.05$) with relation to the WS. There were no effect on the shear force, being only observed differences ($P<0.05$) at aging times of 1, 7 and 21 days (10.4 ± 0.5 ; 8.8 ± 0.5 and 6.8 ± 0.5 kgf, respectively). The WS animals showed the lower carcass temperatures ($15.07\pm0.29^\circ\text{C}$; $P=0.05$) and the higher total losses ($28.9\pm0.5\%$; $P=0.06$). The WV8 level was efficient to increase L^* ($P=0.065$), a^* ($P=0.02$) and b^* ($P<0.001$) compared to WV2 (32.3 ± 0.5 ; 17.0 ± 0.4 and 4.5 ± 0.2 vs 30.5 ± 0.5 ; 15.8 ± 0.4 and 3.5 ± 0.2 ; respectively). For these values, the WV2 level did not differ ($P>0.05$) in relation to NV (31.6 ± 0.5 ; 15.5 ± 0.4 and 3.3 ± 0.2). NS (34.5 ± 0.5) animals presented the higher ($P<0.05$) L^* values at 24 hours *postmortem* than WS (32.6 ± 0.5). Vitamin D₃ supplementation in the diet and sunlight exposure did not affect animal performance and beef tenderness. The vitamin D₃ can alter beef lightness. The sunlight exposure can also improve the beef lightness and interact with the vitamin D₃ supplementation to define the myofibrillar fragmentation.

Keywords: Calcium; Carcass Traits; Shade; Shear Force; *Longissimus* Muscle

1 INTRODUÇÃO

Embora no Brasil grande parte da população (82,2%) prefira consumir carne bovina, apenas um nicho pequeno de consumidores (30,2%) se preocupa com sua maciez (DELGADO et al., 2006). A produção de carcaças de má qualidade também parece ser um aspecto predominante no Brasil, que rotineiramente realiza abate de animais velhos (três anos e meio) (SORIA, 2005).

Entretanto, a exportação de carne bovina brasileira tem sido destacada mundialmente. Nestes últimos anos, a Rússia, Hong Kong e União Européia consolidaram-se como principais importadores de carne bovina brasileira, para onde se destinam cerca de 52% (365.227 toneladas) do total exportado (702.360 toneladas) (ABIEC, 2008). Dentre os aspectos de qualidade valorizados pelos consumidores externos tem se destacado a maciez (KOOHMARAIE, 1994; MORGAN et al., 1991a).

O gado nacional compõe-se na sua grande maioria (80%) de animais da raça zebuína (*Bos indicus*), que são resistentes ao calor e ectoparasitas. No entanto, estes animais são considerados um grupo que produz carne com menor maciez, por apresentarem maiores níveis da proteína calpastatina (inibidora do amaciamento natural da carne) quando comparado a outros tipos biológicos (CROUSE et al., 1989; WHEELER et al., 1990, 1994; WHIPPLE et al., 1990; JOHNSON et al., 1990; SHACKELFORD et al., 1991, 1994; RUBENSAM et al., 1998).

Tentativas em melhorar a maciez têm sido focadas na utilização de técnicas *postmortem*, como resfriamento retardado, manejo de câmara fria, suspensão pélvica, estimulação elétrica, maturação e aplicação de cloreto e propionato de cálcio (CROUSE et al., 1987; MORGAN et al., 1991b; JEREMIAH et al., 1984; HUFF; PARRISH, 1993). Todavia, as técnicas *antemortem* parecem ser menos exploradas para resolver ou minimizar o problema de maciez em carne quando comparada às técnicas *postmortem*.

Em alguns casos, a suplementação de Vitamina D₃ em animais, antes do abate, tem melhorado a maciez de carne bovina (MONTGOMERY et al., 2000, 2002, 2004; SWANEK et al., 1999; KARGES et al., 2001; FOOTE et al., 2004). A explicação básica usada para alcançar este efeito é que a vitamina D₃ no organismo animal é capaz de aumentar os níveis de cálcio plasmático e muscular, conseqüentemente causando aumento na taxa e extensão da proteólise muscular através da maior ação das enzimas calpaínas (dependentes de cálcio) durante maturação. Por outro lado, a suplementação de vitamina D₃ tem prejudicado o desempenho de

animais (MONTGOMERY et al., 2002; KARGES et al., 2001; SCANGA et al., 2001), apesar de não alterar as características das carcaças (MONTGOMERY et al., 2002; SCANGA et al., 2001; SWANEK et al., 1999).

Aspectos relevantes como, a radiação ultravioleta (UV), não tem sido levada em consideração nas pesquisas com suplementação de vitamina D₃ que visam melhoria na maciez. A radiação UV, já que é fonte de vitamina D₃, pode possivelmente interferir na proteólise muscular como também em outras características de qualidade, por exemplo, cor, pH e capacidade de retenção de água. Um dos mecanismos envolvidos na regulação de vitamina D₃ e seus metabólitos circulantes se dá por enzimas renais, que podem estar condicionadas ou não a estes circulantes (OMDAHL et al., 2002). Com base nesta teoria, a hipótese deste trabalho é que animais submetidos ao sombreamento podem responder melhor à suplementação de vitamina D₃ nos parâmetros de maciez de carne bovina, em razão de suas enzimas renais não estarem condicionadas.

Portanto, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito da interação entre suplementação de vitamina D₃ na dieta e exposição solar no processo de amaciamento da carne (informação direcionado ao consumidor) e suas conseqüências em desempenho e características qualitativas de carcaça (informação direcionada ao produtor) em bovinos *Bos indicus*.

Referências

ABIEC. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INDÚSTRIA E COMÉRCIO. Exportações de carne bovina por país importador: Período de Janeiro à Junho de 2008. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/tabela.asp?id_periodo=7>. Acesso em: 17 jul. 08.

CROUSE, J. D.; SEIDMAN, S. C.; CUNDIFF, L. V. The effect of carcass electrical stimulation on meat obtained from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. **Journal of Food Quality**, Westport, v.10, p.407-416, 1987.

CROUSE, J. D.; CUNDIFF, L. V.; KOCH, R. M.; KOOHMARAIE, M.; SEIDMAN, S. C. Comparisons of *Bos indicus* and *Bos taurus* inheritance for carcass beef characteristics and meat palatability. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 67, n.10, p.2661-2668, 1989.

DELGADO, E. F.; AGUIAR, A. P.; ORTEGA, E. M. M.; SPOTO, M. H. F.; CASTILLO, C. J. C. Brazilian consumers' perception of tenderness of beef steaks classified by shear force and taste. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.63, n.3, p.232-239, 2006.

FOOTE, M. R.; HORST, R. L.; HUFF-LONERGAN, E. J.; TRENKLE, A. H.; PARRISH JR., F. C.; BEITZ, D. C. The use of vitamin D₃ and its metabolites to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.82, p.242-249, 2004.

HUFF, E. J.; PARRISH JR, F. C. Bovine *Longissimus* muscle tenderness as affected by postmortem aging time, animal age and sex. **Journal of Food Science**, Chicago, v.58, n.4, p.713-716, 1993.

JEREMIAH, L. E.; MARTIN, A. H.; ACHTYNOMICHUK, G. Effects of delayed chilling and altered carcass suspension upon beef muscle – I Physical and textural properties. **Journal of Food Quality**, Westport, v.6, n.4 p.259-271, 1984.

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**, Albany, v. 68, n. 7, p. 1980-1986, 1990.

KARGES, K.; BROOKS, J. C.; GILL, D. R.; BREAZILE, J. E.; OWENS, F. N.; MORGAN, J. B. Effects of supplemental vitamin D₃ on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and muscle properties of beef steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.11, p.2844-2850, 2001.

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

MONTGOMERY, J. L., PARRISH, JR. F. C., BEITZ, D. C.; HORST, R. L.; HUFF-LONERGAN, E. J.; TRENKLE, A. H. The use of vitamin D₃ to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.78, p.2615-2621, 2000.

- MONTGOMERY, J. L.M.A. CARR, C.R. KERTH, G.G. HILTON, B.P. PRICE, M.L. GALYEAN, R.L. HORST; MILLER, M.F. Effect of vitamin D₃ supplementation level on the postmortem tenderization of beef from steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.80, p.971–981, 2002.
- MONTGOMERY, J. L.; KING, M.B.; GENTRY, J.G.; BARHAM, A.R.; BARHAM, B.L.; HILTON, G.G.; BLANTON, J.R.; HORST, JR., R. L.; GALYEAN, M.L.; MORROW, K.J. WESTER, JR., D. B.; MILLER, M.F. Supplemental vitamin D₃ concentration and biological type of steers. II. Tenderness, quality, and residues of beef. **Journal of Animal Science**, Albany, v.82, p.2092-2104, 2004
- MORGAN, J.B.; SAVELL, J.W.; HALE, D.S.; MILLER, R.K.; GRIFFEN, D.B.; CROSS, H.R.; SHACKLEFORD, S.D. National beef tenderness survey. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.69, n.8, p.3274-3283, 1991.a.
- MORGAN, J.B.; MILLER, R.K.; MENDEZ, F.M.; HALE, D.S.; SAVELL, J.W. Using calcium chloride injection to improve tenderness of beef from mature cows. **Journal of Animal Science**, Albany, v.69, p.4469-4476, 1991b.
- OMDAHL, J.L.; MORRIS, H.A.; MAY, B.K. Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: expression, function, and regulation. **Annual Reviews of Nutrition**, Palo Alto, v.22, p.139–166, 2002.
- 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**, Campinas, v.18, n.4, p.405-409, 1998.
- SCANGA, J.A.; BELK, K.E.; TATUM, J.D.; SMITH, G.C. Supranutritional oral supplementation with vitamin D₃ and calcium and the effects on beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.4, p.912-918, 2001.
- SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M.; MILLER, M.F.; CROUSE, J.D.; REAGAN, J.O. An evaluation of tenderness of the *Longissimus* muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.69, p. 171-177, 1991.
- SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M.; CUNDIFF, L.V.; GREGORY, K.E.; ROHRER, G.A.; SAVELL, J.W. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine post rigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner Bratzler shear force, retail product yield and growth rate. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 72, p. 857-863, 1994.
- SORIA, R.F. **Características de carcaças bovinas obtidas por frigoríficos na região central do Brasil, um retrato especial e temporal**. 2005. 60p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.
- SWANEK, S.S.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D.R.; STRASIA, C.A.; DOLEZAL, H. G.; RAY, F. K. Vitamin D₃ supplementation of beef steers increases *Longissimus* tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.77, n.4, p.874-881, 1999.

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

WHEELER, T.L.; CUNDIFF, L.V.; KOCH, R.M. Effect of marbling degree on beef palatability in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v.72, p.3145–3151, 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**, Albany, v.68, p. 2716-2728, 1990.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Vitamina D₃

Vitamina D, calciferol, é uma vitamina lipossolúvel que pode ser encontrada em alimentos como também pode ser produzida pela pele após exposição solar. Na natureza, a vitamina D é encontrada em duas formas: vitamina D₂ (ergocalciferol) e vitamina D₃ (colecalfiferol). A vitamina D₂ é conhecida como sendo a forma sintética da vitamina, mas apresenta a mesma atividade que a vitamina natural (D₃). Nos tecidos animais, a influência dos raios solares sobre o 7-di-hidro-colesterol forma sob a pele a vitamina D₃ (ROBERT et al., 2002; BLEZINGER, 2001; BONDI, 1988; GAMAN; SHERRINGTON, 1981).

Deficiências de vitamina D₃ são raras em bovinos de corte, desde que haja sua produção na pele através da exposição solar. Suplementação de vitamina D₃ tem sido somente necessária quando os animais são mantidos em locais cobertos ou quando há insuficiência ou nenhuma luz solar por duas à três semanas (SIEGMUND, 1991).

O requerimento encontrado de vitamina D₃ para bovinos de corte é de 275 UI por quilo de Matéria Seca (NRC, 1996). Suplementação de vitamina D₃ acima do recomendado, 4 à 10 vezes, pode causar toxicidade no animal. Os sintomas de toxicidade são: fadiga, problemas intestinais, parada cardíaca, letargia, queda no desempenho animal, entre outros (ROCHE, 2000; STANTON, 2001). Por outro lado, a deficiência de vitamina D₃ pode causar raquitismo e osteomalácia.

2.2 Metabolismo da vitamina D₃ e seus metabólitos no organismo

No organismo, uma das principais funções da vitamina D é elevar os níveis de cálcio e fósforo do plasma por supersaturação, com a finalidade da mineralização normal dos ossos. Além dessa, outras funções são designadas a esta vitamina, como a absorção de cálcio e fósforo, mobilização do cálcio do osso e imunidade (BLEZINGER, 2001; WEISS, 1998; BONDI, 1988; GAMAN; SHERRINGTON, 1981).

Em associações com gorduras, a vitamina D é rapidamente absorvida no aparelho digestivo, necessitando da presença de sais biliares. A vitamina D₃ ingerida é absorvida primeiramente no duodeno e jejuno e a sua presença no organismo, faz com que o cálcio apareça rapidamente no sangue (ELLIS et al., 2000). Após a sua absorção, a vitamina D₃ é transportada

pelos vasos linfáticos e circulam no sangue ligadas a proteína ligadora de vitamina D. A vitamina D₃ é captada pelo fígado, onde é hidroxilada na posição 25 pela 25 vitamina D₃-hidroxilase, uma enzima do retículo endoplasmático, considerada limitante da via. Nos túbulos renais, ossos e placenta, a 25-hidroxi-vitamina D₃ [25(OH)D₃] é hidroxilada subsequêntemente na posição 1, pela enzima mitocondrial 25-hidroxi-vitamina D₃-1-hidroxilase, dando como produto a 1,25-di-hidroxi-vitamina D₃ [1,25(OH)₂D₃] (ROBERT et al., 2002).

O hormônio esteróide, 1,25-di-hidroxi-vitamina D₃, possui potência biológica que varia de 1 a 5 vezes a potência da vitamina D₃, uma vez que esta é a forma fisiologicamente ativa dessa vitamina (NRC, 1996; BONDI, 1988).

Figura 1 – Esquema ilustrativo resumido do trajeto do metabolismo de vitamina D₃ via oral ou via exposição à luz solar no animal

2.3 Vitamina D₃ e seus metabólitos relacionados com exposição solar

O efeito da vitamina D₃ e seus metabólitos em animais no processo de amaciamento têm sido explorados, entretanto nenhum destes estudos tem levado em consideração a influência da exposição à luz solar no metabolismo da vitamina D₃. Por outro lado, a literatura relacionada com este tema tem sido abundante em pesquisas com humanos.

Fatores ambientais importantes como, estação do ano, horas luz dia, latitude geográfica e altitude influenciam na intensidade de radiação ultravioleta (UV) (HOLICK, 2002). Isto aliado ao fato de que, a fonte fisiológica de vitamina D₃ é obtida mais pela via exposição solar do que alimento justifica porque crianças que vivem em cidades, localizadas em altas latitudes, adquirem raquitismo, uma doença que inibe o crescimento e é causada pela deficiência de vitamina D (OMDAHL et al., 2002).

Existem trabalhos mostrando que o tempo de à luz solar necessários para atingir os níveis necessários de vitamina D₃ no organismo adequados pode variar dependendo da pigmentação da pele, idade e sexo (HOLICK, 2002; MOISE et al., 1999; ORTONE, 1990). Em geral, estes trabalhos indicam que um curto tempo de exposição à luz solar é suficiente para alcançar concentrações adequadas da vitamina.

Nas latitudes do Canadá em meses de inverno, a conversão da provitamina D, na pele de bovinos, para seu composto ativo pode ser limitado por causa da radiação UV insuficiente (HIDIROGLOU et al., 1979). Esses mesmos autores observaram que, no verão, os animais a pasto apresentaram maior concentração de 25(OH)D₃ (49 ng/mL) no plasma do que os animais em área coberta (19 ng/mL), devido à maior exposição solar.

Em períodos de exposição exagerada aos raios UV, raramente ocorre uma hipervitaminose D₃ em mamíferos, pois o mecanismo metabólico renal do animal está condicionado a converter o excesso de 25(OH)D₃ em uma molécula inativa 24,25-dihidroxi-vitamina D₃ [24,25(OH)₂D₃] (OMDAHL et al., 2002; COMBS, 1992). O processo de condicionamento envolve também a redução da hidroxilação na posição 1 do metabólito 25(OH)D₃, com a supressão da atividade da enzima 25-hidroxi-vitamina D₃-1-hidroxilase, bem como aumento da atividade da enzima 25-vitamina D₃-24-hidroxilase renal (OMDHAL et al., 2002). Por outro lado, durante exposição limitada aos raios UV, os mecanismos metabólicos dos bovinos não estão condicionados a converter o excesso de 25(OH)D₃ em 24,25(OH)₂D₃ e,

portanto, podem responder de forma mais eficaz a uma suplementação de 25(OH)D₃ (WERTZ et al., 2004).

2.4 Vantagens e desvantagens da suplementação de vitamina D₃

A utilização de vitamina D₃ possibilita o aumento das concentrações de cálcio no plasma, resultados estes que parecem estar ligados à aceleração do processo de amaciamento da carne (SWANEK et al., 1999; KOTRLA et al., 2001; MONTGOMERY et al., 2000, 2001; KARGES et al., 2001; FOOTE et al., 2004). Entretanto, outros trabalhos não encontraram benefícios consistentes quanto ao processo de maturação da carne (PEDREIRA et al., 2003; REILING; JOHNSON, 2003; SELL et al., 2004; CHO et al., 2006; TIPTON et al., 2007; CARNAGEY et al., 2008ab).

Excessos de vitamina D₃ na dieta causam resíduos de vitamina D₃ e 25(OH)D₃ na carne (MONTGOMERY et al., 2000, 2002; FOOTE et al., 2004). Para humanos, a ingestão de alimentos contendo alta concentração de vitamina D representa elevação no risco de saúde, especificamente, através da calcificação de tecidos moles e indução da calcificação arterial, recentemente descoberto (RAJASREE et al., 2002).

Outro fator agravante do uso da vitamina D₃ relaciona-se a uma queda no desempenho do animal na fase de terminação especificamente como, queda na ingestão de matéria seca, no peso vivo e no peso da carcaça (MONTGOMERY et al., 2002; KARGES et al., 2001).

2.5 Efeito das dosagens de vitamina D₃ no cálcio plasmático

Tem sido sugerido que, as dosagens utilizadas na suplementação de vitamina D₃ pré-abate para melhorar o processo de amaciamento da carne devem ser testadas antes de ser implementada pela indústria da carne (MONTGOMERY et al., 2002).

Há na literatura avaliações de dosagens que chegam até 7,5x10⁶ UI de vitamina D₃ fornecida por períodos de 2 a 10 dias consecutivos antes do abate (KARGES et al., 2001; MONTGOMERY et al., 2000, 2001, 2002; SWANEK et al., 1999; FOOTE et al., 2004; PEDREIRA et al., 2003; BERRY et al., 2000; WIEGAND et al., 2001; BEITZ et al., 1997).

Dosagens de vitamina D₃ igual ou acima de 1x10⁶ UI suplementadas por pelo menos 8 dias consecutivos têm sido efetivas para elevar a concentração de cálcio plasmático em alguns trabalhos (MONTGOMERY et al., 2001, 2002), porém não em outros (SCANGA et al., 2001).

Segundo os últimos autores, a menor dosagem testada e suficiente para elevar a concentração de cálcio plasmático foi de 2×10^6 UI de vitamina D₃, não havendo diferença de comportamento entre suplementação de 2 e 8 dias consecutivos pré-abate.

Desta maneira, os resultados têm sugerido que os efeitos nos atributos desejáveis tais como, ausência de queda no desempenho e de resíduos na carne e modificação na velocidade de maturação da carne, possam ser atingidos com níveis baixos de vitamina D₃ por períodos curtos de suplementação (SCANGA et al., 2001; MONTGOMERY et al., 2001, 2002).

2.6 Amaciamento da carne mediado pela Vitamina D₃ e seus metabólitos

Entre os atributos considerados mais importantes pelos consumidores, a maciez da carne tem despertado interesse para a busca dos principais fatores envolvidos na sua definição (KOOHMARAIE, 1994; MORGAN et al., 1991). A maciez da carne depende do grau de alteração dos componentes do músculo e das proteínas associadas (KOOHMARAIE, 1996). Proteínas como, actina, miosina, titina, nebulina, desmina, talina e α -actina ajudam no vigamento normal e função de contração do músculo (MACFARLANE et al., 1977; PRICE, 1991). Após o abate, uma maior fragmentação dessas proteínas ocorre pelo aumento da atividade das calpaínas, estimulada pelo influxo de cálcio para o sarcoplasma (BANDMAN; ZDANIS, 1988; TAKAHASHI et al., 1995).

Tecnologia para alterar o processo natural de amaciamento da carne, o uso de vitamina D₃ e seus metabólitos consistem no fornecimento por via oral em baixo, médio ou alto nível, e diferentes períodos de tempo antes do abate. A vitamina D₃ ou seus metabólitos pode elevar a concentração de cálcio no músculo, aumentar a atividade da calpaína e melhorar a degradação *postmortem* das proteínas miofibrilares, aumentando a maciez da carne (FOOTE et al., 2004; SWANEK et al., 1999; MONTGOMERY et al., 2000, 2002).

A diminuição da força de cisalhamento em bifes *Longissimus dorsi* tem sido relatada como resultado da suplementação com vitamina D₃ (FOOTE et al., 2004; KOTRLA et al., 2001). Por outro lado, diferentes dosagens do metabólito 25(OH)D₃ não alteraram a degradação de Troponina-T e nem força de cisalhamento (WERTZ et al., 2004).

Efeitos no processo de amaciamento através de expressão gênica de RNAm e proteases musculares (m- e μ -calpaína e calpastatina) têm sido recentemente demonstrado em animais

suplementados com o metabólito 25(OH)D₃, indicando potencial para melhorar a maciez, embora nenhum efeito tenha sido observado em força de cisalhamento (CHO et al., 2006).

2.7 Coloração da carne mediado pela vitamina D₃ e seus metabólitos

Aspectos relacionados com a coloração da carne têm sido bastante explorados em suínos suplementados com vitamina D₃ pré-abate (LAHUCKY et al., 2007; WIEGAND et al., 2002; SWIGERT et al., 2004; ENRIGHT et al., 1998). Mensurações objetivas como luminosidade (valor de L^*) e cromaticidade (valores de a^* e b^*) são bastante usadas para verificar a efetividade da vitamina D₃ na cor da carne.

Recentemente, um trabalho reportou maiores valores de a^* no quinto dia *postmortem* acompanhado de menores níveis de substâncias reativas à ácido tiobarbitúrico (*TBARS*) na carne de suínos suplementados com vitamina D₃ pré-abate, indicando potencial antioxidante da vitamina D₃ (LAHUCKY et al., 2007). Entretanto, neste mesmo trabalho não houve relato de efeito de vitamina D₃ para os valores de luminosidade (L^*), como também para os valores de a^* e b^* em tempos mais próximos ao abate como 24 horas *postmortem*.

Maiores valores de a^* mais tardiamente (3º dia e 14º dia) e nenhuma modificação em tempos mais próximos ao abate (≤ 24 horas *postmortem*) nos valores de L^* e b^* parecem ser consistentes em suínos suplementados com vitamina D₃, como tem ocorrido em outros trabalhos (SWIGERT et al., 2004; WIEGAND et al., 2002). Em períodos mais tardios, alguns trabalhos têm verificado que a suplementação reduz os valores de L^* (WIEGAND et al., 2002; ENRIGHT et al., 1998) e b^* (ENRIGHT et al., 1998), enquanto outros não observam modificação para estes (SWIGERT et al., 2004; LAHUCKY et al., 2007).

Em bovinos, relato de valores maiores para luminosidade (L^*) e cromaticidade ($a^* + b^*$) imediatamente após o abate tem sido verificado (STRYDOM et al., 2007). Por outro lado, indicativos contrários também existem como redução quadrática nos valores de a^* e b^* , embora sem alteração em L^* (MONTGOMERY et al., 2002).

2.8 Relação de maciez e cor na carne

Certos aspectos tais como, a velocidade da queda de pH, pH final e cor do músculo *Longissimus dorsi* estão relacionados com o amaciamento da carne (MARSH et al., 1987; WATANABE et al., 1996; PAGE et al., 2001; WULF et al., 1997).

Conforme Delgado (2001), a cor da carne é um método importante na predição da maciez e é ditada pelo pH, que por sua vez define a capacidade de retenção de água pela estrutura da superfície, aumentando ou diminuindo a absorbância de luz. A correlação entre pH e maciez é biologicamente esperada já que o processo de amaciamento ocorre por ação proteolítica (enzimática) característica da musculatura (KOOH MARAIE, 1992).

Referências

BANDMAN, E; ZDANIS, D. An immunological method to assess degradation in postmortem muscle. **Meat Science**, Barking, v.22, p.1-19, 1988.

BEITZ, D.; TRENKLE, A.; PARRISH, F.; MONTGOMERY, J.; HORST, R. Feeding of vitamin D3 is a potential method to improve tenderness of beef. **Dairy Report**, Iowa State University, DSL. 145, 4p. 1997. Disponível em: <<http://extension.iastate.edu/Pages/dairy/report97/products/dsl-145.pdf>>. Acesso em 21 jan.2002.

BERRY, B.A.; GILL, D.R.; BALL, R. Effects of feeding vitamin D on feedlot performance, carcass traits, and meat tenderness of finishing steers. **Animal Science Research Report**, Oklahoma: Stillwater, 2000. p.98-103.

BLEZINGER, S.B. Small vitamin imbalances can be critical. Walden Farms – Cattle Today online, June 2001. Disponível em: <<http://cattletoday.com/archive/2001/june/CT153shtml>>. Acesso em 20 dez.2001.

BONDI, A.A. **Nutricion animal**. Zaragoza: Acribia, 1988. p.244-250.

CARNAGEY, K.M.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.; WERTZ-LUTZ, A.E.; HORST, R.L.; BEITZ, D.C. Use of 25-hydroxyvitamin D₃ and vitamin E to improve tenderness of beef from the *Longissimus dorsi* of heifers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.86, p.1649-1657, 2008a.

CARNAGEY, K.M.; HUFF-LONERGAN, E.J.; LONERGAN, S.M.; TRENKLE, A.; HORST, R.L.; BEITZ, D.C. Use of 25-hydroxyvitamin D₃ and dietary calcium to improve tenderness of beef from the round of beef cows. **Journal of Animal Science**, Albany, v.86, p.1637-1648, 2008b.

CHO, Y.M.; CHOI, H.; HWANG, I.H.; KIM, Y.K.; MYUNG, K.H. Effects of 25-hydroxyvitamin D₃ and manipulated dietary cation-anion difference on the tenderness of beef from cull native Korean cows. **Journal of Animal Science**, Albany, v.84, p.1481-1488, 2006.

COMBS JR, G.F. Discovery of the vitamins. In: _____ **The Vitamins**: Fundamental aspects in nutrition and health. San Diego: Academic Press, 1992. p.329-410.

DELGADO, E.F. Fatores bioquímicos que afetam a maciez da carne. In: BERAQUET, N. J.; LEMOS, A L.S.C.; NETO, M.P.; ARIMA, H.K. (Ed.). **Carne**: qualidade e segurança para os consumidores do novo milênio São Pedro, SP: In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 1., 2001. p.143-160.

ELLIS, M.; McKEITH, F.; SOSNICKI, A. **Nutritional Influences on Pork Quality**. Des Moines: American Meat Science Association, 2000. 345p.

ENRIGHT, K.L.; ANDERSON, B.K.; ELLIS, M.; MCKEITH, F.K.; BERGER, L.L.; BAKER, D.H. The effects of feeding high levels of vitamin D₃ on pork quality. **Journal of Animal Science**, Albany, v.76, suppl.1, p.149 (Abstr.), 1998.

FOOTE, M.R.; HORST, R.L.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H.; PARRISH JR, F.C.; BEITZ, D.C. The use of vitamin D₃ and its metabolites to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.82, p.242-249, 2004.

GAMAN, P.M.; SHERRINGTON, K.B. **Science of food**: an introduction to food science. Nutrition and microbiology. 2nd.ed. Oxford: Pergamon Press, 1981. p.1-103.

HIDIROGLOU, M.; PROULX, J.G.; ROUBOS, D. 25-Hydroxyvitamin D in plasma of cattle. **Journal Dairy of Science**, Lancaster, v.62, p.1076-1080, 1979.

HOLICK, M.F. Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health 9th.ed.,. **Current Opinion Endocrinology Diabetes**. 2002. p.87-98.

KARGES, K.; BROOKS, J.C.; GILL, D.R.; BREAZILE, J.E.; OWENS, F.N.; MORGAN, J.B. Effects of supplemental vitamin D₃ on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and muscle properties of beef steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.11, p.2844-2850, 2001.

KOOHMARAIE, M. Effect of pH, temperature, and inhibitors on autolysis and catalytic activity of bovine skeletal muscle μ -calpain. **Journal of Animal Science**, Albany, v.70, p.3071–3080, 1992.

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

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

KOTRLA, L.A.; STANKO, R.L.; TIPTON, N.C.; PASCHAL, J.C. Effect of vitamin D₃ supplementation on carcass tenderness in Brahman-based cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.2, p.9-10, 2001.

LAHUCKY, R.; BAHNELKA, I.; KUECHENMEISTER, U.; VASICKOVA, K.; NUERNBERG, K.; ENDER, K.; NUERNBERG, G. Effects of dietary supplementation of vitamins D₃ and E on quality characteristics of pigs and *Longissimus* muscle antioxidative capacity. **Meat Science**, Barking, v.77, p.264–268, 2007.

MACFARLANE, J.J.; SCHMIDT, G.R.; TURNER, R.H. Binding of meat pieces: a comparison of myosin, actomyosin and sarcoplasmic proteins as binding agents. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, n.6, p.1603-1604, 1977.

MARSH, B.B.; RINGKOB, T.P.; RUSSELL, R.L.; SWARTZ, D.R.; PAGAL, L.A. Effects of early-postmortem glycolytic rate on beef tenderness. **Meat Science**, Barking, v.21, p.241-228, 1987.

MOISE, A.F.; BUTTNER, P.G.; HARRISON, S.L. Sun exposure at school. **Photochemistry and Photobiology**, Oxford,, v.70, n.2, p.269-274, 1999.

MONTGOMERY, J.L.; MILLER, M.F.; BLANTON JR, J. R.; HORST, R. L. Using vitamin D₃ to improve beef tenderness in three different breed types. Texas: Tech University, 2001. 25p. (Final Report)

MONTGOMERY, J.L.; PARRISH JR, F.C.; BEITZ, D.C.; HORST, R.L.; HUFFLONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H. The use of vitamin D₃ to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.78, p.2615–2621, 2000.

MONTGOMERY, J.L.; CARR, M.A.; KERTH, C.R.; HILTON, G.G.; PRICE, B.P.; GALYEAN, M.L.; HORST, R.L.; MILLER, M.F. Effect of vitamin D₃ supplementation level on the postmortem tenderization of beef from steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.80, p.971–981, 2002.

MORGAN, J.B.; SAVELL, J.W.; HALE, D.S.; MILLER, R.K.; GRIFFEN, D.B.; CROSS, H.R.; SHACKLEFORD, S.D. National beef tenderness survey. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.69, n.8, p.3274-3283, 1991.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 7th ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. p.76-77.

OMDAHL, J.L.; MORRIS, H.A.; MAY, B.K. Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: expression, function, and regulation. **Annual Reviews of Nutrition**, Palo Alto, v.22, p.139–166, 2002.

ORTONNE, J.P. The effects of ultraviolet exposure on skin melanin pigmentation. **The Journal of International Medicine Research**, Worthing, v.18(Suppl 3), p.8C-17C, 1990.

PAGE, J.K.; WULF, D.M.; SCHWOTZER, T.R. A survey of beef muscle color and pH. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 79, p. 678-687, 2001.

PEDREIRA, A.C.M.S.; LUCHIARI FILHO, A.; LEITE, V.B.O.; CARVALHO, M.H. Quality characteristics of *Longissimus dorsi* muscle from *Bos indicus* animals treated with vitamin D₃. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.60, n.4, p.637-642, 2003.

PRICE, M.G. **Advances in Structural Biology**. Greenwich, CT (Ed.).Melhorta, 1991.v.1. p. 17

RAJASREE, S.; UMASHANKAR, P.R.; LAL, A.V.; SARMA, P.S.; KARTHA, C.C. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor is up-regulated in aortic smooth muscle cells during hypervitaminosis D. **Life Science**, Amsterdam, v.70, p.1777-1788, 2002.

REILING, B.A.; JOHNSON, D.D. Effects of implant regimens (trenbolone acetate-estradiol administered alone or in combination with zeranol) and vitamin D₃ on fresh beef color and quality. **Journal of Animal Science**, Albany, v.81, p.135-142, 2003.

ROBERT, K.M.; PETER, A. M.; DARYL, K. G. **Harper Bioquímica**. 9. ed. São Paulo: Editora Ateneu, 2002. p 645-647.

ROCHE. Vitamin D. **Roche vitamins**: vitamin D in animal nutrition, 2000. 8 p., Disponível em: <www.roche.com/vitamins/what/anh/vits/vitd.html>. Acesso em: 20 dez.2001.

SCANGA, J.A.; BELK, K.E.; TATUM, J.D.; SMITH, G.C. Supranutritional oral supplementation with vitamin D₃ and calcium and the effects on beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.4, p.912-918, 2001.

SELL, N.R.; MIKEL, W.B.; XIONG; Y.L.; BEHREND, J.M. Vitamin D₃ supplementation of cull cows: Effects on *Longissimus* and *Semitendinosus* muscle tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.82, p.225-230, 2004.

SIEGMUND, O.H. **Merck veterinary manual a handbook of diagnosis and therapy for the veterinary**. Rahway : Merck, 1991. 1832 p

STANTON, T.L. Vitamins for finishing cattle. **Feed Composition Guide**. 3p. 1998. Disponível em: <<http://content.com/feedcomp/feed992.htm>>. Acesso em: 22 jan.2002.

STRYDOM, P.E.; FRYLINCK, L.; MARAIS, G.L. Supplemental vitamin D₃ and electrical stimulation to reduce the effect of a beta agonist on meat quality. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 53., 2007 **Proceedings...** 2007.

SWANEK, S.S.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D.R.; STRASIA, C.A.; DOLEZAL, H. G.; RAY, F.K. Vitamin D₃ supplementation of beef steers increases *Longissimus* tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.77, n.4, p.874-881, 1999.

SWIGERT, K.S.; MCKEITH, F.K.; CARR, T.C.; BREWER, M.S; CULBERTSON, M. Effects of dietary vitamin D₃, vitamin E, and magnesium supplementation on pork quality. **Meat Science**, Barking, v.67, p.81-86, 2004.

TAKAHASHI, K.; HATTORI, A.; KUROYNAGI, H. Relationship between the translocation of paratropomyosin and the rigor-shortened sarcomeres during postmortem ageing of meat. **Meat Science**, Barking, v.40, p.413-423, 1995.

TIPTON, N.C.; KING, D.A.; PASCHAL, J.C.; HALE, D.S.; SAVELL, J.W. Effects of oral vitamin D₃ supplementation and supplement withdrawal on the accumulation of magnesium, calcium, and vitamin D in the serum, liver, and muscle tissue and subsequent carcass and meat quality of *Bos indicus* influenced cattle. **Meat Science**, Barking, v.75, p.150-158, 2007.

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

WEISS, W.P. Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cows: a review. **Journal Dairy of Science**, Lancaster, v.81, n.9, p.2493-2501, 1998.

WERTZ, A.E.; KNIGHT, T. J.; TRENKLE, A.; SONON, R.; HORST, R.L.; HUFFLONERGAN, E.J.; BEITZ, D.C. Feeding 25-hydroxyvitamin D₃ to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.82, p.1410-1418, 2004.

WIEGAND, B.R.; PARRISH JR, F.C.; MORRICAL, D.G.; HUFF-LONERGAN, E. Feeding high levels of vitamin D₃ does not improve tenderness of callipyge lamb loin chops. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.8, p.2086-2091, 2001.

WIEGAND, B.R.; SPARKS, J.C.; BEITZ, D.C.; PARRISH JR, F.C.; HORST, R.L.; TRENKLE, A.H.; EWAN, R.C. Short-term feeding of vitamin D₃ improves color but does not change tenderness of pork-loin chops. **Journal of Animal Science**, Albany, v.80, p.2116–2121, 2002.

WULF, D.M.; O'CONNOR, S.F.; TATUM, J.D.; SMITH, G.C. Using objective measures of muscle color to predict beef *Longissimus* tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.75, p.684-692, 1997.

3 VITAMINA D₃ NA DIETA E EXPOSIÇÃO À LUZ SOLAR NÃO ALTERAM DESEMPENHO DE BOVINOS CONFINADOS

Resumo

Doses elevadas de vitamina D₃ têm sido preconizadas para melhorar a maciez da carne. Animais suplementados com doses altas de vitamina na dieta têm apresentado queda no desempenho, por razões de toxicidade causada pela concentração elevada da vitamina e seus metabólitos, embora mudanças nas características qualitativas de carcaças dificilmente sejam observadas. A interação entre vitamina em doses moderadas e níveis de exposição à luz solar (fonte de vitamina D₃ fotossintetizada) podem ser importantes na redução de efeitos negativos da suplementação. Portanto, o objetivo deste experimento foi verificar se existe interação entre suplementação de vitamina D₃ na dieta e exposição à luz solar no desempenho e nas características qualitativas de carcaça em bovinos de corte *Bos indicus*. Foram confinados 40 machos castrados Nelore ($\mu=412\pm38$ kg) por 45 dias, sendo divididos em 6 tratamentos: T1) Sem suplementação de vitamina D₃ (SV) ou sombrite (SS); T2) SV e com sombrite (CS - filtração de 50% de radiação ultravioleta); T3) Com 2×10^6 UI de vitamina D₃ (CV) por 2 dias consecutivos pré-abate + SS; T4) CV por 2 dias consecutivos pré-abate + CS; T5) CV por 8 dias consecutivos pré-abate + SS; e T6) CV por 8 dias consecutivos pré-abate + CS. Mensurações *postmortem* foram realizadas no músculo *Longissimus dorsi*. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com arranjo fatorial 3 (dosagens de vitamina D₃) x 2 (condições de exposição à luz solar). Para as variáveis de desempenho animal nenhum efeito ($P>0,05$) foi encontrado. Menor espessura de gordura ($P=0,09$) e peso de carcaça quente ($P=0,08$) e resfriada ($P=0,10$) foram verificadas para T6 comparado com T5 ($1,8\pm0,6$ mm; $240,5\pm3,0$ e $236,6\pm3,0$ kg vs $3,4\pm0,6$ mm, $251,2\pm3,2$ e $246,1\pm3,2$ kg, respectivamente). Na carne, houve queda ($P<0,05$) durante o período *postmortem* da temperatura (0h – $27,5\pm0,4^\circ\text{C}$; 3h – $19,4\pm0,4^\circ\text{C}$; 6h – $13,7\pm0,4^\circ\text{C}$; e 24h – $1,0\pm0,4^\circ\text{C}$) e também maior pH à 0h ($7,06\pm0,17$) e pH semelhante entre as 3h ($6,51\pm0,07$) e 24h ($6,00\pm0,49$). Animais CS ($15,07\pm0,3^\circ\text{C}$) apresentaram menor temperatura de carcaça ($P=0,05$) do que os animais SS ($15,70\pm0,3^\circ\text{C}$). Estes resultados demonstram que a interação entre suplementação de vitamina D₃ na dieta e exposição à luz solar não afetou negativamente o desempenho animal, entretanto mostraram potencial para alterar as características qualitativas de carcaças.

Palavras-chave: Características de Carcaça; Consumo Alimentar; Espessura de Gordura; Sombreamento

VITAMIN D₃ IN THE DIET AND SUNLIGHT EXPOSURE DO NOT ALTER THE FEEDLOT BEEF CATTLE PERFORMANCE

Abstract

High vitamin D₃ levels have been recognized to improve beef tenderness. Those high vitamin levels may lead to drop on the performance due to toxicity caused by high vitamin and its metabolites in the body, although changes at qualitative traits are difficult to be observed. The interaction between moderate vitamin levels and sunlight exposure levels (photosynthesized vitamin D₃ source) could be important to reduce negative supplementation effects. Hence, the

objective of this experiment was to verify if there is interaction between vitamin D₃ supplementation in the diet and sunlight exposure on the performance and carcass qualitative traits in *Bos indicus* beef cattle. Forty Nellore castrated bulls ($\mu=412\pm38$ kg) were feedlot for 45 days, after being assigned to 6 treatments: T1) No vitamin D₃ supplementation (NV) or shade (NS); T2) NV with shade (WS – 50% ultraviolet radiation filtration); T3) With 2×10^6 UI of vitamin D₃ for 2 days consecutive pre-slaughter (WV2) + NS; T4) WV2 + WS; T5) With 2×10^6 UI of vitamin D₃ for 8 days consecutive pre-slaughter (WV8)+ NS; and T6) WV8 + WS. The *postmortem* measures were taken in the *Longissimus dorsi* muscle. The experimental design used was completely randomized blocks with 3 (vitamin D₃ levels) x 2 (sunlight exposure conditions) factorial arrangements. There were no effect ($P>0.05$) on the performance variables. Lower fat thickness ($P=0.09$), hot ($P=0.08$) and cold ($P=0.10$) carcass weight were found for T6 compared to T5 (1.8 ± 0.6 mm; 240.5 ± 3.0 and 236.6 ± 3.0 kg vs 3.4 ± 0.6 mm, 251.2 ± 3.2 and 246.1 ± 3.2 kg, respectively). In the beef, there was decline during the *postmortem* period of temperature (0h – $27.5\pm0.4^\circ\text{C}$; 3h – $19.4\pm0.4^\circ\text{C}$; 6h – $13.7\pm0.4^\circ\text{C}$; e 24h – $1.0\pm0.4^\circ\text{C}$) and also higher pH at 0h (7.06 ± 0.17) and similar pH between at 3h (6.51 ± 0.07) and 24h (6.00 ± 0.49). WS ($15.07\pm0.3^\circ\text{C}$) animals presented the lower carcass temperature ($P=0.05$) than the NS ($15.70\pm0.3^\circ\text{C}$) animals. These results showed that the interaction between vitamin D₃ supplementation in the diet and sunlight exposure did not affect negatively the animal performance, however they showed potential to alter the carcass qualitative traits.

Keywords: Carcass Traits; Fat Thickness; Feed Intake; Shadow

3.1 Introdução

A suplementação de vitamina D₃ em bovinos apresenta efeito positivo para o amaciamento natural da carne, contudo doses elevadas afetam negativamente no desempenho animal, (MONTGOMERY et al., 2002; KARGES et al., 2001; SCANGA et al., 2001). Por outro lado, as características de carcaça são praticamente inalteradas com a suplementação de vitamina D₃ (MONTGOMERY et al., 2002; SWANEK et al., 1999; BERRY et al., 2000).

Animais suplementados com vitamina D₃, geralmente, diminuem a ingestão alimentar (SCANGA et al., 2001; MONTGOMERY et al., 2002; BERRY et al., 2000). A razão para esta queda no consumo tem sido relacionada à alteração na homeostase de alguns hormônios e compostos importantes no metabolismo animal, provocado pelos níveis suprafisiológicos de vitamina D₃, podendo acarretar, em algumas situações, resíduos no fígado, rins e carne. Entre as principais alterações metabólicas estão: a elevação de cálcio (SCANGA et al., 2001; MONTGOMERY et al., 2002; KARGES et al., 2001; SWANEK et al., 1999) e 25(OH)D₃ (FOOTE et al., 2004; MONTGOMERY et al., 2000) circulantes.

A queda do consumo pode desencadear outros efeitos indesejáveis no desempenho animal, como redução no ganho de peso diário e peso vivo final e piora conversão alimentar (SCANGA et al., 2001; MONTGOMERY et al., 2002; BERRY et al., 2000). Desta forma, possibilidades de alteração nas características de carcaça (queda de pH e temperatura da carcaça, entre outros) podem vir a ocorrer devido ao fato destes animais possuírem, talvez, menores reserva corpórea de glicogênio e gordura subcutânea (KARGES et al., 2001).

Portanto, o objetivo seria verificar se a interação entre suplementação de vitamina D₃ na dieta e exposição à luz solar afeta negativamente a produção animal e as características qualitativas de carcaça em bovinos de corte.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Animais

Foram utilizados 42 machos castrados *Bos indicus* (grande contribuição da raça Nelore) provenientes de um rebanho comercial, com peso médio inicial de 412±38 kg e idade média acima de 30 meses, considerando animais com 6 dentes incisivos permanentes. Destes animais dois foram descartados após um período de adaptação de 45 dias à dieta de alto concentrado, e os 40 restantes foram divididos em três grupos que representavam categorias de peso vivo inicial no período experimental (pesado, intermediário e leve) sendo então sorteados e designados a 6 diferentes tratamentos. O diferencial de peso no início do período experimental poderia resultar em diferentes potenciais de crescimento muscular.

3.2.2 Tratamentos

Aos animais que foram alojados em baias individuais para permitir o controle do consumo, especialmente da vitamina D₃, foram fornecidos seis tratamentos (3 dosagens diferentes x 2 sistemas de exposição à luz solar), que são: 1) Sem suplementação de vitamina D₃ ou sombrite (n=7); 2) Sem suplementação de vitamina D₃ e com sombrite (filtração especificada de 70% de UV) (n=7); 3) Com 2x10⁶ UI de vitamina D₃ por 2 dias consecutivos pré-abate e sem sombrite (n=7); 4) Com 2x10⁶ UI de vitamina D₃ por 2 dias consecutivos pré-abate e sombrite (n=6); 5) Com 2x10⁶ UI de vitamina D₃ por 8 dias consecutivos pré-abate e sem sombrite (n=6); e 6) Com 2x10⁶ UI de vitamina D₃ por 8 dias consecutivos pré-abate e sombrite (n=7).

3.2.3 Fornecimento de Vitamina D₃

A vitamina foi cedida pela empresa Roche responsável pela comercialização da vitamina no mercado brasileiro. O fornecimento da vitamina D₃ (4 gramas = 2×10^6 UI) foi feito por via oral, misturado ao volumoso e concentrado (somando aproximadamente 1 kg) em um cocho pequeno, específico para esta finalidade. A ingestão total da vitamina D₃ foi verificada pelo acompanhamento do consumo integral do alimento contido no referido cocho. Posteriormente, o animal recebia o restante da dieta (80,02% MS; 72,05% NDT; 13,67% PB e 3,03% EE; 0,08% Cálcio; 0,30% Fósforo) composta de 21% de volumoso (bagaço-de-cana *in natura*) e 79% de concentrado (60,00% milho moído; 15,21% farelo de soja; 3,79% núcleo mineral/NC Bov Nutron TMR), a qual era fornecida uma única vez ao dia (manhã).

3.2.4 Sombreamento dos Animais e Confinamento

Devido ao fato do confinamento (sentido sudeste-noroeste) apresentar um lado (noroeste) com maior insolação durante o período experimental, o sombreamento foi realizado somente no lado oposto (sudeste). Desta forma obtiveram-se as condições mais extremas para diferenciar a exposição à luz solar, em ambiente bastante semelhante. Para o sombreamento, foram utilizados sombrites da marca Nova Plast (Nova Odessa-SP) com filtração especificada de 70% contra radiação UV. Três sombrites de 50 x 3 m/cada foram costurados formando um grande sombreamento (50 x 9 m), o qual era suficiente para cobrir os fundos e as laterais de todas as baias. Para impedir a luz solar que vinha da parte da frente das baias foi utilizado um sombrite (50 x 1,5 m), que cobria a área acima do cocho até um pouco mais da altura dos animais.

O confinamento tem 85 metros (m) de comprimento e 15 m de largura, sendo composto de 72 baias individuais (8 m²) pareadas e opostas separadas por um corredor central de 3 m de largura. Neste corredor ficam localizados os cochos, cobertos por um telhado comum de telhas de amianto com pé direito de 4,5 m e 8 m de largura.

3.2.5 Adaptação dos Animais

Os animais foram confinados por 45 dias e, nos primeiros 37 dias, adaptados fisiologicamente à exposição diferenciada aos raios UV provenientes da luz solar e à suplementação com vitamina D₃. Para a primeira condição, metade dos animais (n=20) foram

submetidos às baías sem sombrite (baías do lado noroeste) e a outra metade (n=20) foram submetidas às baías sombreadas (baías do lado sudeste). Para a segunda condição, todos os animais foram condicionados a receber parte do trato em um cocho pequeno de tambor, antes de receber o restante da dieta.

3.2.6 Período e Localização do experimento

O experimento foi realizado entre o dia 30 de novembro de 2007 e 14 de janeiro de 2008 (verão) em confinamento experimental localizado na cidade de Andradina-SP. A cidade de Andradina apresenta uma latitude de 20°53'45" Sul, longitude 51°22'44" Oeste e altitude de 405 metros.

3.2.7 Radiação Global, Radiação Ultravioleta e Dados Climáticos

Os dados de radiação global (RG) foram obtidos através do site <http://aspersao.agr.feis.unesp.br/ilha>, os quais são fornecidos mensalmente. O equipamento utilizado para a realização dessas medições é conhecido como piranômetro LI-200X, o qual se encontra em uma central de dados climáticos (Universidade Estadual de São Paulo/UNESP), na cidade de Ilha Solteira-SP. Os dados obtidos em Ilha Solteira foram utilizados pela proximidade de localização (apenas 72 km de distância da cidade de Andradina) e características climáticas semelhantes (latitude de 20°25'58" Sul, longitude de 51°20'33" Oeste e altitude de 335 metros).

A partir dos dados de radiação global foram estimadas as radiações UV (RUV) para o sol e para sombra. A fórmula utilizada para a estimativa de radiação UV no sol foi “ $RUV = 0,04155 \times RG$ ” (ESCOBEDO et al., 2006). Para a estimativa de radiação UV na sombra, o sombrite foi enviado para a UNESP, em Botucatu-SP, para ser analisado por um radiômetro CUV-3 da Kipp-Zonen e certificar se o potencial real, em percentagem, de filtração à radiação UV era realmente os 70% especificados. Após o sombrite ser analisado foi verificado que sua filtração à radiação UV era de 50%. Com base nisto, o valor da radiação UV estimado no sol foi dividido pela metade, sendo o resultado o valor estimado da radiação UV na sombra. Os valores de radiação global e radiação UV foram expressos em MJ/m².

Foram registradas também a temperatura e umidade relativa do ar às 9, 12, 15 e 18 horas, no lado sombreado e no lado exposto a radiação UV. A radiação global, radiação UV e os dados

climáticos durante o período de suplementação de vitamina D₃ (8 dias consecutivos pré-abate) estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Médias de radiação global e UV, temperatura e umidade relativa do ar durante período de confinamento e período de suplementação de vitamina D₃ para os lados sem e com sombrite

DIA	Radiação Global		Radiação UV		Temperatura		Umidade Média	
	(MJ/m ²)		(MJ/m ²)		Média (°C)		(%)	
	SS ^a	CS ^b	SS ^c	CS ^c	SS	CS	SS	CS
PCE^a	24,5	12,2	1,0	0,5	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>
Dia 1	24,8	12,4	1,03	0,52	36,1	34,9	41,0	46,0
Dia 2	30,1	15,1	1,25	0,63	36,5	33,8	39,0	46,0
Dia 3	31,1	15,6	1,29	0,65	36,3	33,9	38,0	46,0
Dia 4	30,7	15,4	1,28	0,64	38,7	35,2	31,0	39,0
Dia 5	20,6	10,3	0,86	0,43	32,8	30,6	49,0	59,0
Dia 6	24,3	12,2	1,01	0,50	36,3	33,7	41,0	50,0
Dia 7	21,5	10,8	0,89	0,45	34,1	31,7	46,0	53,0
Dia 8^d	3,3	1,7	0,14	0,07	36,3	31,9	41,0	55,0

SS – Sem Sombrite; CS – Com Sombrite

PCE – Período de Experimental de Confinamento anterior à suplementação de vitamina D₃

nd – não determinado

^aDados obtidos pela central meteorológica da UNESP (Fonte: http://aspersao.agr.feis.unesp.br/ilha_jan08.htm)

^bDados obtidos através da divisão da Radiação Global no sol (Filtração do sombrite = 50%).

^cDados obtidos através da fórmula: Radiação UV = 0,04155 x Radiação Global (ESCOBEDO et al., 2006).

^dDia com céu parcialmente coberto.

3.2.8 Comportamento do Consumo

Amostragens da dieta (volumoso e concentrado) e da sobra foram feitas a cada 20 dias para determinação do teor de Matéria Seca (MS) através do processo de secagem por estufa. Ambas a dieta e a sobra apresentaram o mesmo teor de MS. Devido à isto, o consumo dos animais em MS resultou da multiplicação do consumo (alimento fornecido menos a sobra) em Matéria Orgânica (MO) pela porcentagem de MS da dieta determinado.

Do total de 45 dias de experimento foram analisados o comportamento do consumo dos animais em 42 dias. Os três (3) dias restantes foram excluídos da análise por serem dias em que os animais foram submetidos à pesagem e/ou coleta de sangue. O comportamento foi analisado

semanalmente para os primeiros 35 dias (cinco semanas) e diário para os últimos sete dias (dia 35 à 42, uma semana), dos quais seis dias eram dias de suplementação de vitamina D₃.

3.2.9 Desempenho Animal

Para estudo do desempenho animal foram analisadas as variáveis, consumo médio, conversão alimentar, ganho médio diário (GMD), peso vivo inicial (PVI) e peso vivo final (PVF) no período de 45 dias de experimento.

- Consumo Médio = MS ingerida em 45 dias ÷ 45 dias
- Conversão Alimentar = MS ingerida em 45 dias ÷ ganho de peso animal em 45 dias
- GMD = Ganho de peso animal em 45 dias ÷ 45 dias

Já, PVI e PVF foram obtidos através das pesagens feitas no início do experimento e antes do abate, respectivamente.

3.2.10 Abate e Avaliação da Carcaça

O abate foi realizado no dia 15 de janeiro de 2008 em frigorífico comercial, na cidade de Ilha Solteira-SP. Após o abate, as duas meias carcaças, do lado direito [PCQ (LD)] e do lado esquerdo [PCQ (LE)], foram pesadas quentes para mensuração do peso de carcaça quente total (PCQ) e rendimento de carcaça quente (RCQ); em seguida, meias carcaças do lado esquerdo foram resfriadas por um período de 24 horas em câmara fria (0-4°C) para obtenção do peso da carcaça resfriada do lado esquerdo [PCR (LE)]. A partir do PCQ (LD) foram estimados os pesos das meias carcaças resfriadas do lado direito [PCR (LD)], e por sua vez, o peso total da carcaça resfriada (PCR) e rendimento de carcaça resfriada (RCR). O peso vivo final (PVF) dos animais também foram utilizados nas fórmulas de estimações, que encontram-se abaixo:

- $PCR (LD) = - 1,4955 + [0,9962 \times PCQ (LD)]$
- $PCR = PCR (LD) + PCR (LE)$
- $RCR = [PCR \div PVF] \times 100$

A área de olho do lombo (AOL) foi coletada, entre a 12^a-13^a costela, utilizando-se de um papel vegetal, e posteriormente, mensurada pelo aparelho LI-3100 Area Meter geralmente utilizado para fazer medições de área foliar em plantas. A espessura de gordura (EG) foi medida também na altura da 12^a-13^a costela, com uma régua graduada específica para a medição da gordura (LUCHIARI FILHO, 2000).

3.2.11 pH e Temperatura

Os dados de pH foram tomados nos tempos 0, 3 e 24 horas *postmortem* e os dados da temperatura da carcaça foram tomados nos tempos 0, 3, 6 e 24 horas *postmortem*. Essas medidas foram tomadas no músculo *Longissimus dorsi*, do lado esquerdo da carcaça, utilizando-se de um medidor de pH e temperatura portátil digital processado com sonda Lancefet em plástico ABS e ponteira em inox, Marca Sentron. Também foram tomadas as temperaturas da câmara fria nos tempos das coletas de dados do pH e temperaturas do músculo selecionado.

3.2.12 Análise Estatística

Para a execução e análise dos dados foi implantado um delineamento experimental em blocos casualizados (três diferentes categorias de peso vivo inicial após período de adaptação à dietas de alto concentrado) com arranjo fatorial 3 x 2, sendo 3 esquemas de suplementação com vitamina D₃ e 2 sistemas de exposição à luz solar, resultando em 6 tratamentos com 7 repetições, exceto para dois tratamentos que apresentaram uma parcela perdida/cada restando 6 repetições/cada (totalizando 40 animais). As variáveis dependentes do modelo geral linear (GLM) foram: peso vivo inicial (co-váriavel), peso vivo final, ganho médio diário, consumo alimentar médio, conversão alimentar, peso da carcaça quente e resfriada, rendimento de carcaça quente e resfriada, coloração da carne, área de olho de lombo e espessura da gordura. Para as variáveis, curvas de queda do pH e temperatura da carcaça, foram adotadas um esquema de medidas repetidas no tempo. Os dados foram analisados através do programa estatístico PROC MIXED do SAS (2000).

3.3 Resultados e Discussão

O efeito potencialmente negativo da suplementação com vitamina D₃ na ingestão alimentar dos animais parece estar ausente (Figura 2). Os animais sem suplementação ou aqueles suplementados por 2 dias pré-abate demonstraram o mesmo comportamento de redução no consumo no período referente ao início da suplementação encontrado para os animais suplementados por 8 dias. O consumo de todos os grupos de animais, independentemente do tratamento, retornou aos valores mais altos observados na semana que precedeu a suplementação, o que geralmente não ocorre em casos de toxicidade por excesso de vitamina D₃ circulante.

Figura 2 - Comportamento semanal e diário de consumo alimentar dos animais entre os diferentes níveis de suplementação de vitamina D₃ na dieta [0=Sem suplementação; 2x10⁶UI (2d)=Com suplementação de 2x10⁶ UI de vitamina D₃ dois dias consecutivos pré-abate; e 2x10⁶UI (8d)=Com suplementação de 2x10⁶ UI de vitamina D₃ oito dias consecutivos pré-abate] durante todo o período experimental que compreende um período de adaptação (36 primeiros dias) e um período de suplementação de vitamina D₃ (6 últimos dias), onde o D2 corresponde ao segundo dia de suplementação e o D7 ao penúltimo dia de suplementação (S=Semana; D=Dia)

A suplementação de vitamina D₃ via *bolus* (cápsula gelatinosa protegida), na mesma dose por 8 dias que precederam o abate, foi relatada com efetiva na redução da ingestão alimentar (SCANGA et al., 2001). Apenas doses mais elevadas foram efetivas na redução da ingestão em experimentos que forneceram a vitamina em pó juntamente com a ração (MONTGOMERY et al., 2002; BERRY et al., 2000).

Peso vivo final, ganho médio diário, consumo alimentar médio e conversão alimentar médio não foram alterados ($P>0,05$) pela suplementação de vitamina D₃ independentemente do nível de proteção à luz solar (Tabela 2). De forma isolada, este último também não foi capaz ($P>0,05$) de modificar as variáveis de desempenho.

As variáveis de desempenho apontam para ausência de efeito tóxico da vitamina D₃ no metabolismo do animal nas dosagens utilizadas. Especificamente, o consumo alimentar médio para os níveis de suplementação mostrou-se inalterado ($P>0,05$) concordando com o comportamento semanal e diário encontrado na Figura 2.

Tabela 2 – Quadrado médio mínimo das variáveis de desempenho animal entre as diferentes suplementações com vitamina D₃ e exposições à luz solar durante todo o período experimental*

Condição	Suplementação de Vitamina D ₃			Média	Valor de P
	Controle	2x10 ⁶ UI (2d)	2x10 ⁶ UI (8d)		
Peso Vivo Final (kg) – P=0,42					
Sol	472,0 ± 7,1	476,6 ± 7,1	489,6 ± 7,6	479,4 ± 4,2	0,26
Sombra	473,5 ± 7,1	472,0 ± 7,6	472,0 ± 7,1	472,5 ± 4,2	
Média	472,7 ± 5,0	474,3 ± 5,2	480,9 ± 5,2		
Valor de P	0,50				
Ganho Médio Diário (kg/dia) – P=0,41					
Sol	1,3 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,7 ± 0,2	1,5 ± 0,1	0,26
Sombra	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,1	
Média	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1		
Valor de P	0,50				
Consumo Alimentar (kg MS/dia) – P=0,29					
Sol	9,6 ± 0,4	8,9 ± 0,4	8,9 ± 0,4	9,1 ± 0,3	0,26
Sombra	8,5 ± 0,4	8,9 ± 0,4	8,8 ± 0,4	8,8 ± 0,3	
Média	9,1 ± 0,3	8,9 ± 0,3	8,9 ± 0,3		
Valor de P	0,86				
Conversão Alimentar (kg MS/kg PV) – P=0,23					
Sol	7,8 ± 0,8	6,5 ± 0,8	5,8 ± 0,9	6,7 ± 0,5	0,67
Sombra	6,5 ± 0,8	7,3 ± 0,9	7,1 ± 0,8	7,0 ± 0,5	
Média	7,1 ± 0,6	6,9 ± 0,6	6,4 ± 0,6		
Valor de P	0,68				

*Média ± erro padrão

Dosagem de vitamina D₃ idêntica, mesmo oferecida via cápsulas gelatinosas para melhorar efetividade, foi descrita sem demonstrar alteração no peso vivo final e no ganho médio diário (SCANGA et al., 2001). Em outra referência, doses ainda mais elevadas com 5,0 ou 7,5x10⁶ UI de vitamina D₃ fornecidas por 9 dias não afetaram peso vivo final, consumo alimentar

médio e ganho médio diário (MONTGOMERY et al., 2002). Por outro lado, existe relato de efeito negativo no ganho médio diário, consumo alimentar médio e conversão alimentar com dose de 6×10^6 UI por 5 dias (BERRY et al., 2000).

A suplementação de vitamina D₃ e condições de exposição à luz solar não tiveram nenhum efeito negativo ($P > 0,05$) no peso e rendimento da carcaça quente e resfriada, área de olho do lombo e espessura de gordura (Tabela 3). Entretanto, alguns indicativos de interação entre suplementação de vitamina D₃ e condições de exposição à luz solar foram observados para peso de carcaça quente ($P = 0,08$) e resfriada ($P = 0,10$) e espessura de gordura ($P = 0,09$). Nestas três medidas existe uma consistência de resultados, mostrando sempre que dentro da dosagem 2×10^6 UI de vitamina D₃ por 8 dias pré-abate, os animais com maior exposição à luz solar possuem resultados maiores, indicando um maior acabamento.

A utilização de suplementação na mesma dosagem deste experimento não alterou rendimento de carcaça e a marmorização em bovinos (SCANGA et al., 2001). Resultados de redução do peso de carcaça quente e espessura de gordura foram observados em doses elevadas de vitamina D₃ na dieta (KARGES et al., 2001). Todavia, existe relato com as mesmas doses utilizadas pelos últimos autores que não verificaram alteração para as mesmas variáveis (BERRY et al., 2000). Doses atingindo o patamar de $7,5 \times 10^6$ UI de vitamina D₃ não alteraram nenhuma das características de carcaças relatadas (MONTGOMERY et al., 2002).

Tabela 3 - Quadrado médio mínimo das variáveis de características qualitativas de carcaça bovina entre as diferentes suplementações com vitamina D₃ e exposições à luz solar durante todo o período experimental*

Condição	Suplementação de Vitamina D ₃			Média	Valor de P
	Controle	2x10 ⁶ UI (2d)	2x10 ⁶ UI (8d)		
Peso de Carcaça Quente (kg) – P=0,08					
Sol	243,4 ± 3,0	243,8 ± 3,0	250,2 ^a ± 3,2	245,8 ± 2,0	0,31
Sombra	247,1 ± 3,1	242,3 ± 3,2	240,5 ^b ± 3,0	243,3 ± 2,0	
Média	245,3 ± 2,3	243,0 ± 2,4	245,4 ± 2,4		
Valor de P	0,67				
Rendimento de Carcaça Quente (%) – P=0,68					
Sol	51,6 ± 0,6	51,1 ± 0,6	51,1 ± 0,6	51,3 ± 0,4	0,56
Sombra	52,3 ± 0,6	51,4 ± 0,6	50,9 ± 0,6	51,5 ± 0,4	
Média	51,9 ± 0,4	51,3 ± 0,5	51,0 ± 0,5		
Valor de P	0,20				
Peso de Carcaça Resfriada (kg) – P=0,10					
Sol	239,9 ± 3,0	239,8 ± 3,0	246,1 ^a ± 3,2	241,9 ± 1,9	0,31
Sombra	243,3 ± 3,0	238,4 ± 3,2	236,6 ^b ± 3,0	239,4 ± 1,9	
Média	241,6 ± 2,2	239,1 ± 2,3	241,3 ± 2,3		
Valor de P	0,65				
Rendimento de Carcaça Resfriada (%) – P=0,74					
Sol	50,8 ± 0,5	50,3 ± 0,5	50,2 ± 0,6	50,4 ± 0,4	0,59
Sombra	51,4 ± 0,5	50,5 ± 0,6	50,1 ± 0,5	50,7 ± 0,4	
Média	51,1 ± 0,4	50,4 ± 0,4	50,1 ± 0,4		
Valor de P	0,16				
Área de Olho de Lombo (kg MS/kg PV) – P=0,24					
Sol	62,0 ± 1,9	65,1 ± 1,9	63,8 ± 2,1	63,6 ± 1,1	0,12
Sombra	68,4 ± 1,9	65,1 ± 2,1	65,3 ± 1,9	66,2 ± 1,1	
Média	65,2 ± 1,4	65,1 ± 1,4	64,5 ± 1,4		
Valor de P	0,94				
Espessura de Gordura (mm) – P=0,09					
Sol	2,8 ± 0,6	2,6 ± 0,6	3,4 ^a ± 0,6	2,9 ± 0,5	0,58
Sombra	3,1 ± 0,6	3,1 ± 0,6	1,8 ^b ± 0,6	2,7 ± 0,5	
Média	3,0 ± 0,5	2,8 ± 0,5	2,6 ± 0,5		
Valor de P	0,77				

*Média ± erro padrão

^{a,b}Letras sobrescritas minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (P<0,05)

Somente efeito de tempo *postmortem* (P<0,0001) foi encontrado nas mensurações de pH das carcaças. Todavia, nenhum efeito (P>0,05) foi observado para os níveis de suplementação de vitamina D₃ e/ou as condições de exposição à luz solar (Figura 3). Os resultados corroboram com

relato de ineficácia de várias doses de vitamina D₃ na alteração dos valores de pH às 3 e 24 horas *postmortem* (MONTGOMERY et al., 2002).

Figura 3 - Medida de pH da carcaça entre os níveis de suplementação de vitamina D₃ e as condições de exposição à luz solar nos tempos 0, 3 e 24 horas *postmortem* (efeito de tempo *postmortem*, $P < 0,0001$). Letras diferentes dentro de tempo diferem estatisticamente ($P < 0,05$)

A espessura de gordura poderia influenciar na queda de pH da musculatura, pois poderia influenciar na velocidade de resfriamento da carcaça.

Temperatura de carcaça mostrou efeito de sombreamento ($P = 0,05$). Dentro deste efeito, os animais com sombrite apresentaram menor ($15,07 \pm 0,3^\circ\text{C}$) temperatura de carcaça do que os animais com exposição à luz solar ($15,70 \pm 0,3^\circ\text{C}$). Efeito do tempo *postmortem* ($P < 0,0001$) e também tendência de interação entre os níveis de suplementação de vitamina D₃ e condições de exposição à luz solar ($P = 0,11$; Figura 4) foram verificados.

Figura 4 - Temperatura das carcaças dos animais suplementados com vitamina D₃ e diferentes condições exposições à luz solar nos tempos 0, 3, 6 e 24 horas *postmortem* (efeito de sombreamento e tempo *postmortem*; P=0,11). ns – P>0,05; * - P<0,05

Embora nenhum efeito ($P>0,05$) de suplementação de vitamina D₃ foi observado para temperaturas de carcaças, existem trabalhos que constatarem menores temperaturas de carcaças às 24 horas *postmortem* para animais suplementados com 1,0; 2,5; 5,0; e $7,5 \times 10^6$ UI de vitamina D₃ e nenhuma modificação às 3 horas *postmortem* (MONTGOMERY et al., 2002).

3.4 Conclusão

Em dosagens baixas não existe impacto da suplementação de vitamina D₃ no desempenho do animal, resfriamento da carcaça ou queda de pH da carne. A alteração de características da carcaça e carne em dosagens baixas de vitamina D₃ pode sofrer influência da exposição do animal à luz solar.

Referências

BERRY, B.A.; GILL, D.R.; BALL, R. Effects of feeding vitamin D on feedlot performance, carcass traits, and meat tenderness of finishing steers. **Animal Science Research Report**, Oklahoma, v.3, n.5, p.98-103, 2000.

ESCOBEDO, J.F.; GOMES, E.N.; OLIVEIRA, A.P.; SOARES, J. Radiações solares UV, PAR e IV: I-estimativa em função da global. **Avances en energias renovables y medio ambiente**, Salta, v.10, p.79-86, 2006.

FOOTE, M.R.; HORST, R.L.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H.; PARRISH JR, F.C.; BEITZ, D.C. The use of vitamin D₃ and its metabolites to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.82, p.242-249, 2004.

KARGES, K.; BROOKS, J.C.; GILL, D.R.; BREAZILE, J.E.; OWENS, F.N.; MORGAN, J. B. Effects of supplemental vitamin D₃ on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and muscle properties of beef steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.11, p.2844-2850, 2001.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: Albino Luchiari Filho, 2000. 234p.

MONTGOMERY, J.L.; PARRISH JR, F.C.; BEITZ, D.C.; HORST, R.L.; HUFFLONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H. The use of vitamin D₃ to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.78, p.2615–2621, 2000.

MONTGOMERY, J.L.; CARR, M.A.; KERTH, C.R.; HILTON, G.G.; PRICE, B.P.; GALYEAN, M.L.; HORST, R.L.; MILLER, M.F. Effect of vitamin D₃ supplementation level on the postmortem tenderization of beef from steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.80, p.971–981, 2002.

SAS Institute **SAS Language and procedures**: usage. Version 8.1. Cary: SAS Institute, 2000.

SCANGA, J.A.; BELK, K.E.; TATUM, J. D.; SMITH, G.C. Supranutritional oral supplementation with vitamin D₃ and calcium and the effects on beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.4, p.912-918, 2001.

SWANEK, S.S.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D. R.; STRASIA, C.A.; DOLEZAL, H. G.; RAY, F. K. Vitamin D₃ supplementation of beef steers increases Longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.77, n.4, p.874-881, 1999.

4 QUALIDADE DA CARNE DE *Bos indicus* É ALTERADA PELA VITAMINA D₃ NA DIETA E EXPOSIÇÃO À LUZ SOLAR SEM INCREMENTO NA MACIEZ

Resumo

A maciez é o atributo de maior impacto na avaliação de qualidade durante o consumo da carne bovina. Na decisão de compra, a cor da carne passa a ter importância primária. A suplementação com vitamina D₃ na dieta dos animais tem, em alguns casos, alterado positivamente a maciez da carne maturada, além de potencialmente modificar a coloração da carne. A luz solar pode modificar a resposta à vitamina D₃ por condicionamento de enzimas reguladoras de seus metabólitos circulantes. Portanto, este trabalho teve o objetivo de verificar a eficácia da suplementação com vitamina D₃ na dieta de bovinos para modificar variáveis como maciez e cor em condições de proteção ou exposição natural à luz solar. Quarenta e um machos castrados *Bos indicus* ($\mu=411\pm38$ kg) foram confinados por 45 dias, sendo divididos em 6 tratamentos: T1) Sem suplementação de vitamina D₃ (SV) ou sombrite (SS); T2) SV e com sombrite (CS - filtração de 50% de radiação ultravioleta); T3) Com 2×10^6 UI de vitamina D₃ (CV2) por 2 dias consecutivos pré-abate + SS; T4) CV2 + CS; T5) CV por 8 dias consecutivos pré-abate (CV8) + SS; e T6) CV8 + CS. Mensurações *postmortem* foram realizadas no músculo *Longissimus dorsi*. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com arranjo fatorial 3 (dosagens de vitamina D₃) x 2 (condições de exposição à UV). Concentrações de cálcio ionizado plasmático no início e final da suplementação com vitamina não diferiram ($P>0,05$) entre os tratamentos. A dosagem CV8 aumentou a fragmentação ($P=0,09$) em animais SS comparado aos CS ($22,3\pm1,5$ vs $18,3\pm1,5$; respectivamente). Entretanto, os animais SS apresentaram menores concentrações de cálcio muscular total ($P<0,05$) quando comparados aos CS. Nenhum efeito foi verificado em força de cisalhamento, sendo as diferenças observadas ($P<0,05$) somente para os dias de maturação 1, 7 e 21 ($10,4\pm0,5$; $8,8\pm0,5$ e $6,8\pm0,5$ kgf, respectivamente). Os animais CS apresentaram carcaças com menores temperaturas ($15,07\pm0,29^\circ\text{C}$; $P=0,05$) e maiores perdas totais ($28,9\pm0,5\%$; $P=0,06$). A dosagem CV8 foi eficiente para aumentar os valores de L^* ($P=0,065$), a^* ($P=0,02$) e b^* ($P<0,001$) comparado à CV2 ($32,3\pm0,5$; $17,0\pm0,4$ e $4,5\pm0,2$ vs $30,5\pm0,5$; $15,8\pm0,4$ e $3,5\pm0,2$; respectivamente). Para estes valores, a dosagem CV2 não diferiu ($P>0,05$) da dosagem SV ($31,6\pm0,5$; $15,5\pm0,4$ e $3,3\pm0,2$). Animais SS ($34,5\pm0,5$) apresentaram maiores valores ($P<0,05$) de L^* às 24 horas *postmortem* do que CS ($32,6\pm0,5$). Suplementação de vitamina D₃ na dieta e exposição solar não maciez da carne. Vitamina D₃ isoladamente pode alterar o padrão de cor da carne. A exposição à luz solar pode também melhorar a luminosidade da carne e interagir com a suplementação de vitamina D₃ na definição de fragmentação miofibrilar.

Palavras-chave: Cálcio; Coloração; Fragmentação Miofibrilar; Força de Cisalhamento; Maturação; Sombreamento

BEEF QUALITY IN *Bos indicus* IS ALTERED BY VITAMIN D₃ IN THE DIET AND SUNLIGHT EXPOSURE WITHOUT INCREMENT ON TENDERNESS

Abstract

Tenderness is the major attribute on the consumer quality evaluation during beef consumption. During buying decision, beef color becomes the primary item. The vitamin D₃ supplementation in the diet has, in some cases, altered positively the beef tenderness during aging, and could also change beef color. The sunlight may change the vitamin D₃ responsiveness by conditioning the regulatory enzymes to its serum metabolites. Hence, this work aimed to verify the effectiveness of the vitamin D₃ supplementation in the diet of beef cattle to modify meat quality variables as tenderness and color at protection or natural exposure conditions to sunlight. Forty-one Nellore castrated bulls ($\mu=411\pm38$ kg) were feedlot for 45 days, after being assigned to 6 treatments: T1) No vitamin D₃ supplementation (NV) or shade (NS); T2) NV with shade (WS – 50% ultraviolet radiation filtration); T3) With 2×10^6 UI of vitamin D₃ for 2 days consecutive pre-slaughter (WV2) + NS; T4) WV2 + WS; T5) With 2×10^6 UI of vitamin D₃ for 8 days consecutive pre-slaughter (WV8)+ NS; and T6) WV8 + WS. The *postmortem* measures were taken in the *Longissimus dorsi* muscle. The experimental design used was completely randomized blocks with 3 (vitamin D₃ levels) x 2 (sunlight exposure conditions) factorial arrangements. Plasma ionized calcium concentrations did not differ ($P>0.05$) between the treatments either before or after vitamin D₃ supplementation. The WV8 level increased the fragmentation ($P=0.09$) in NS animals with regard to the WS (22.3 ± 1.5 vs 18.3 ± 1.5 , respectively). However, the NS animals presented the lower total muscle calcium concentration ($P<0.05$) with relation to the WS. There were no effect on the shear force, being only observed differences ($P<0.05$) at aging times of 1, 7 and 21 days (10.4 ± 0.5 ; 8.8 ± 0.5 and 6.8 ± 0.5 kgf, respectively). The WS animals showed the lower carcass temperatures ($15.07\pm0.29^\circ\text{C}$; $P=0.05$) and the higher total losses ($28.9\pm0.5\%$; $P=0.06$). The WV8 level was efficient to increase L^* ($P=0.065$), a^* ($P=0.02$) and b^* ($P<0.001$) compared to WV2 (32.3 ± 0.5 ; 17.0 ± 0.4 and 4.5 ± 0.2 vs 30.5 ± 0.5 ; 15.8 ± 0.4 and 3.5 ± 0.2 ; respectively). For these values, the WV2 level did not differ ($P>0.05$) in relation to NV (31.6 ± 0.5 ; 15.5 ± 0.4 and 3.3 ± 0.2). NS (34.5 ± 0.5) animals presented the higher ($P<0.05$) L^* values at 24 hours *postmortem* than WS (32.6 ± 0.5). Vitamin D₃ supplementation in the diet and sunlight exposure did not affect beef tenderness. The vitamin D₃ can alter beef lightness. The sunlight exposure can also improve the beef lightness and interact with the vitamin D₃ supplementation to define the myofibrillar fragmentation.

Keywords: Aging; Calcium; Color; Myofibrillar Fragmentation; Shade; Shear Force

4.1 Introdução

A percepção de pequenas diferenças em maciez de carne bovina por um determinado nicho de consumidores internos tem sido reportada (DELGADO et al., 2006) e parece ser de grande importância para os consumidores externos (KOOHMARAIE, 1992; MORGAN et al.,

1991a). Outra característica de qualidade que tem influenciado os consumidores no momento da compra da carne é a sua coloração (ROBBINS et al. 2003).

Maciez da carne é resultado de um processo natural de amaciamento que decorre da proteólise miofibrilar realizada pelas calpaínas, enzimas que são ativadas pelo cálcio (MORGAN et al. 1991b; GOLL, 1991; KOOHMARAIE, 1992). Por sua vez, a cor da carne reflete o estado oxidativo da carne e está associada com frescor, sendo a cor vermelho-cereja brilhante a mais desejada. Mais de 20% de todos os cortes de carne bovina vendida no varejo dos EUA são descontados ou até mesmo descartados devido à perda da cor vermelho-brilhante (MORGAN et al. 1991a).

Dentre técnicas utilizadas para elevar a maciez da carne, a suplementação com vitamina D₃ e seus metabólitos fornecidos na dieta dos animais têm demonstrado resultados positivos, por obter maior absorção e deposição de cálcio nos músculos (WERTZ et al., 2004; FOOTE et al., 2004; MONTGOMERY et al., 2000, 2002; SCANGA et al., 2001; KARGES et al., 2001; SWANEK et al., 1999; BEITZ et al., 1997). A suplementação de vitamina D₃ também tem demonstrado potencial para melhorar e estabilizar a cor da carne em suínos (WIEGAND et al., 2002; LAHUCKY et al., 2007).

Entretanto, a eficiência destes procedimentos na melhoria da maciez pode ser contestada (PEDREIRA et al., 2003; REILING; JOHNSON, 2003; SELL et al., 2004; CHO et al., 2006; TIPTON et al., 2007; CARNAGEY et al., 2008ab). Existem relatos de uma possível interação entre suplementação e nível de exposição aos raios ultravioletas dos animais na alteração do perfil de metabólitos de vitamina D₃ e, portanto, seu efeito biológico no organismo (HIDIROGLOU et al., 1979; WERTZ et al., 2004).

Desta forma, a hipótese deste trabalho é que animais sombreados respondam melhor a suplementação de vitamina D₃ na dieta para os parâmetros de maciez. Assim, este experimento objetivou avaliar o efeito da interação entre suplementação de vitamina D₃ na dieta e exposição solar no processo de amaciamento da carne de bovinos de corte da raça *Bos indicus*.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Animais

Foram utilizados 42 machos castrados *Bos indicus* (grande contribuição da raça Nelore) provenientes de um rebanho comercial, com peso médio inicial de 411 ± 38 kg e idade média acima de 30 meses, considerando animais com 6 dentes incisivos permanentes. Destes animais um foi descartado após um período de adaptação de 45 dias à dieta de alto concentrado, e os 41 restantes foram divididos em três grupos que representavam categorias de peso vivo inicial no período experimental (pesado, intermediário e leve) sendo então sorteados e designados a 6 diferentes tratamentos. O diferencial de peso no início do período experimental poderia resultar em diferentes potenciais de crescimento muscular.

4.2.2 Tratamentos

Aos animais que foram alojados em baias individuais para permitir o controle do consumo, especialmente da vitamina D₃, foram fornecidos seis tratamentos (3 dosagens diferentes x 2 sistemas de exposição à luz solar), que são: 1) Sem suplementação de vitamina D₃ ou sombrite (n=7); 2) Sem suplementação de vitamina D₃ e com sombrite (filtração especificada de 70% de UV) (n=7); 3) Com 2×10^6 UI de vitamina D₃ por 2 dias consecutivos pré-abate e sem sombrite (n=7); 4) Com 2×10^6 UI de vitamina D₃ por 2 dias consecutivos pré-abate e sombrite (n=7); 5) Com 2×10^6 UI de vitamina D₃ por 8 dias consecutivos pré-abate e sem sombrite (n=6); e 6) Com 2×10^6 UI de vitamina D₃ por 8 dias consecutivos pré-abate e sombrite (n=7).

4.2.3 Fornecimento de Vitamina D₃

A vitamina foi cedida pela empresa Roche responsável pela comercialização da vitamina no mercado brasileiro. O fornecimento da vitamina D₃ (4 gramas = 2×10^6 UI) foi feito por via oral, misturado ao volumoso e concentrado (somando aproximadamente 1 kg) em um cocho pequeno, específico para esta finalidade. A ingestão total da vitamina D₃ foi verificada pelo acompanhamento do consumo integral do alimento contido no referido cocho. Posteriormente, o animal recebia o restante da dieta (80,02% MS; 72,05% NDT; 13,67% PB e 3,03% EE; 0,08% Cálcio; 0,30% Fósforo) composta de 21% de volumoso (bagaço-de-cana *in natura*) e 79% de

concentrado (60,00% milho moído; 15,21% farelo de soja; 3,79% núcleo mineral/NC Bov Nutron TMR), a qual era fornecida uma única vez ao dia (manhã).

4.2.4 Sombreamento dos Animais e Confinamento

Devido ao fato do confinamento (sentido sudeste-noroeste) apresentar um lado (noroeste) com maior insolação durante o período experimental, o sombreamento foi realizado somente no lado oposto (sudeste). Desta forma obtiveram-se as condições mais extremas para diferenciar a exposição à luz solar, em ambiente bastante semelhante. Para o sombreamento, foram utilizados sombrites da marca Nova Plast (Nova Odessa-SP) com filtração especificada de 70% contra radiação UV. Três sombrites de 50 x 3 m/cada foram costurados formando um grande sombreamento (50 x 9 m), o qual era suficiente para cobrir os fundos e as laterais de todas as baias. Para impedir a luz solar que vinha da parte da frente das baias foi utilizado um sombrite (50 x 1,5 m), que cobria a área acima do cocho até um pouco mais da altura dos animais.

O confinamento tem 85 metros (m) de comprimento e 15 m de largura, sendo composto de 72 baias individuais (8 m²) pareadas e opostas separadas por um corredor central de 3 m de largura. Neste corredor ficam localizados os cochos, cobertos por um telhado comum de telhas de amianto com pé direito de 4,5 m e 8 m de largura.

4.2.5 Adaptação dos Animais

Os animais foram confinados por 45 dias e, nos primeiros 37 dias, adaptados fisiologicamente à exposição diferenciada aos raios UV provenientes da luz solar e à suplementação com vitamina D₃. Para a primeira condição, metade dos animais (n=20) foram submetidos às baias sem sombrite (baias do lado noroeste) e a outra metade (n=21) foram submetidas às baias sombreadas (baias do lado sudeste). Para a segunda condição, todos os animais foram condicionados a receber parte do trato em um cocho pequeno de tambor, antes de receber o restante da dieta.

4.2.6 Período e Localização do experimento

O experimento foi realizado entre o dia 30 de novembro de 2007 e 14 de janeiro de 2008 (verão) em confinamento experimental localizado na cidade de Andradina-SP. A cidade de

Andradina apresenta uma latitude de 20°53'45" Sul, longitude 51°22'44" Oeste e altitude de 405 metros.

4.2.7 Radiação Global, Radiação Ultravioleta e Dados Climáticos

Os dados de radiação global (RG) foram obtidos através do site <http://aspersao.agr.feis.unesp.br/ilha>, os quais são fornecidos mensalmente. O equipamento utilizado para a realização dessas medições é conhecido como piranômetro LI-200X, o qual se encontra em uma central de dados climáticos (Universidade Estadual de São Paulo/UNESP), na cidade de Ilha Solteira-SP. Os dados obtidos em Ilha Solteira foram utilizados pela proximidade de localização (apenas 72 km de distância da cidade de Andradina) e características climáticas semelhantes (latitude de 20°25'58" Sul, longitude de 51°20'33" Oeste e altitude de 335 metros).

A partir dos dados de radiação global foram estimadas as radiações UV (RUV) para o sol e para sombra. A fórmula utilizada para a estimação de radiação UV no sol foi “ $RUV = 0,04155 \times RG$ ” (ESCOBEDO et al., 2006). Para a estimação de radiação UV na sombra, o sombrite foi enviado para a UNESP, em Botucatu-SP, para ser analisado por um radiômetro CUV-3 da Kipp-Zonen e certificar se o potencial real, em percentagem, de filtração à radiação UV era realmente os 70% especificados. Após o sombrite ser analisado foi verificado que sua filtração à radiação UV era de 50%. Com base nisto, o valor da radiação UV estimado no sol foi dividido pela metade, sendo o resultado o valor estimado da radiação UV na sombra. Os valores de radiação global e radiação UV foram expressos em MJ/m².

Foram registradas também a temperatura e umidade relativa do ar às 9, 12, 15 e 18 horas, no lado sombreado e no lado exposto a radiação UV. A radiação global, radiação UV e os dados climáticos durante o período de suplementação de vitamina D₃ (8 dias consecutivos pré-abate) estão demonstrados na Tabela 4.

Tabela 4 – Médias de radiação global e UV, temperatura e umidade reativa do ar durante período de confinamento e período de suplementação de vitamina D₃ para os lados sem e com sombrite

DIA	Radiação Global (MJ/m ²)		Radiação UV (MJ/m ²)		Temperatura Média (°C)		Umidade Média (%)	
	SS ^a	CS ^b	SS ^c	CS ^c	SS	CS	SS	CS
PCE^a	24,5	12,2	1,0	0,5	nd	nd	nd	nd
Dia 1	24,8	12,4	1,03	0,52	36,1	34,9	41	46
Dia 2	30,1	15,1	1,25	0,63	36,5	33,8	39	46
Dia 3	31,1	15,6	1,29	0,65	36,3	33,9	38	46
Dia 4	30,7	15,4	1,28	0,64	38,7	35,2	31	39
Dia 5	20,6	10,3	0,86	0,43	32,8	30,6	49	59
Dia 6	24,3	12,2	1,01	0,50	36,3	33,7	41	50
Dia 7	21,5	10,8	0,89	0,45	34,1	31,7	46	53
Dia 8^d	3,3	1,7	0,14	0,07	36,3	31,9	41	55

SS – Sem Sombrite; CS – Com Sombrite

PCE – Período de Experimental de Confinamento anterior à suplementação de vitamina D₃

nd – não determinado

^aDados obtidos pela central meteorológica da UNESP (Fonte: http://aspersao.agr.feis.unesp.br/ilha_jan08.htm)

^bDados obtidos através da divisão da Radiação Global no sol (Filtração do sombrite = 50%).

^cDados obtidos através da fórmula: Radiação UV = 0,04155 x Radiação Global (ESCOBEDO et al., 2006).

^dDia com céu parcialmente coberto.

4.2.8 Abate e Amostragem

De cada animal abatido foram retiradas porções do músculo *Longissimus dorsi* entre a 12^a costela e a 5^a vértebra lombar, que serviram para a avaliação da maciez (força de cisalhamento e Índice de Fragmentação Miofibrilar) e testes de cozimento (Perdas Totais) em diferentes tempos de maturação, sendo então, embaladas á vácuo e refrigeradas (0-4°C). Além disso, uma porção do músculo *Longissimus dorsi* foram coletados, logo após o abate, para determinação da concentração de cálcio e coloração (0 e 1 hora *postmortem*).

4.2.9 pH e Temperatura

Os dados de pH foram tomados nos tempos 0, 3 e 24 horas *postmortem* e os dados da temperatura da carcaça foram tomados nos tempos 0, 3, 6 e 24 horas *postmortem*. Essas medidas foram tomadas no músculo *Longissimus dorsi*, do lado esquerdo da carcaça, utilizando-se de um

medidor de pH e temperatura portátil digital processado com sonda Lancefet em plástico ABS e ponteira em inox, Marca Sentron. Também foram tomadas as temperaturas da câmara fria nos tempos das coletas de dados do pH e temperaturas do músculo selecionado.

4.2.10 Coloração da Carne

Para a determinação da coloração da carne foi utilizado um colorímetro Minolta Chroma Meter (Modelo CR-400), sendo medidas através do sistema CIELAB os parâmetros de luminosidade (L^*), vermelho (a^*) e amarelo (b^*). As leituras foram realizadas às 0, 1 (porções) e 24 (bifes) horas *postmortem* no músculo *Longissimus dorsi* do lado esquerdo da carcaça.

4.2.11 Cálcio Ionizado e Muscular

A coleta de amostras de sangue foi feita no dia inicial do fornecimento da vitamina D₃, antes que o mesmo seja realizado, e no dia do embarque dos animais para o abate. Nessas amostras foram observadas as concentrações de cálcio ionizado, utilizando-se de um analisador portátil de sangue (i-STAT, Abbott) e cartucho CG8+. As análises da concentração de cálcio total nas amostras de carne foram realizadas no Laboratório de Química Analítica-CENA, utilizando-se da metodologia de absorção atômica para a quantificação desse mineral (NAKAMURA, 1973).

4.2.12 Força de Cisalhamento e Perdas Totais

As análises da força de cisalhamento nos dias 1, 7 e 21 *postmortem* e as respectivas perdas por cozimento (perdas totais) foram realizadas imediatamente após os tempos de maturação, exceto para as carnes no dia 1 que foram congeladas. Os procedimentos para estas análises seguiram as recomendações do Meat Animal Research Center, Clay Center, NE, USDA (procedimento padrão seguido por laboratórios certificados para analisar a maciez da carne de bovinos em programas de melhoramento genético) e AMSA (1978).

Para força de cisalhamento, os bifes foram cozidos na grelha elétrica da marca EDANCA[®] até atingirem a temperatura interna de 40°C, quando então foram virados, aguardando atingirem a temperatura interna de 71°C (monitoradas por termômetros). Após retornarem a temperatura ambiente, os bifes foram colocados na câmara fria ($\pm 2^\circ\text{C}$) por onde ficaram toda a noite. No dia seguinte, as extremidades e os tecidos conjuntivos foram retirados dos bifes. Entre 6

e 8 cilindros com diâmetros de 1,25 cm foram selecionados por bife no sentido paralelo às fibras. Por fim, os cilindros foram submetidos ao aparelho Warner Bratzler para medir a força necessária para rasgar o cilindro. A medida utilizada foi expressa em kgf.

Para perdas totais, os bifos foram pesados antes (PI) e posteriormente (PF) ao cozimento. Na última pesagem foram esperados os bifos retornarem à temperatura ambiente. O cálculo realizado para obter o valor de perdas totais em porcentagem foi: $((PI - PF) \div PI) \times 100$.

4.2.13 Índice de Fragmentação Miofibrilar (MFI)

As análises de MFI foram realizadas de duas maneiras diferentes. Na primeira maneira, as análises foram realizadas com carnes frescas nos dias 7 e 21 de maturação. Na segunda maneira, as análises foram realizadas com carnes congeladas em Nitrogênio líquido (-197°C) nos dias 1 e 21 de maturação. Para o procedimento foram necessários 4 g de tecido muscular de cada animal, seguindo o protocolo descrito por Culler et al. (1978), onde o músculo é colocado em um tampão e homogeneizado em liquidificadores "Waring", sendo feita a leitura do MFI em espectrofotômetro a 540 nm. Este método permite verificar a extensão e a taxa da proteólise *postmortem*, ou seja, a fragmentação miofibrilar causada pelas proteases durante os dias de maturação.

4.2.14 Determinação da Degradação de Troponina-T

Método descrito por Laemmli (1970) para observação do aparecimento de fragmento de 28-32 kDa durante o processo de maturação, sendo identificado como a fragmento de degradação de Troponina-T (HO et al., 1994). O aparecimento deste fragmento na fração miofibrilar tem sido utilizado como indicador de amaciamento da carne. A determinação foi realizada nas carnes congeladas do dia 21 de maturação.

4.2.15 Análise Estatística

Para a execução e análise dos dados foi implantado um delineamento experimental em blocos casualizados (três diferentes categorias de peso após período de adaptação à dietas de alto concentrado) com arranjo fatorial 3 x 2, sendo 3 esquemas de suplementação com vitamina D₃ e 2 sistemas de exposição à luz solar, resultando em 6 tratamentos com 7 repetições, exceto para um tratamento que apresentou uma parcela perdida restando 6 repetições (totalizando 41

animais). As variáveis dependentes do modelo geral linear (GLM) foram: coloração da carne, espessura da gordura e concentrações de cálcio no plasma e carne. Para as variáveis, força de cisalhamento, índice de fragmentação miofibrilar (MFI), perdas totais e curvas de queda do pH e temperatura das carcaças, foram adotadas um esquema de medidas repetidas no tempo. Os dados foram analisados através do programa estatístico PROC MIXED do SAS (2000).

4.3 Resultados e Discussão

Os dados climáticos (Tabela 4), principalmente aqueles referentes à energia incidente na forma de radiação UV, mostram valores elevados durante o período de suplementação com vitamina D₃ (8 dias consecutivos pré-abate) na dieta dos animais.

Embora o aumento da concentração de cálcio plasmático tenha sido relacionado largamente (MONTGOMERY et al., 2000, 2004; SWANEK et al., 1999) com a efetividade da suplementação de vitamina D₃ para modificar variáveis de maciez da carne, não foi observado qualquer efeito ($P>0,05$) da exposição à luz solar ou suplementação com vitamina D₃ nas concentrações de cálcio ionizado inicial e final à suplementação (Figura 5).

Figura 5 - Cálcio ionizado plasmático inicial (Dia 0) e final (Dia 8) à suplementação de vitamina D₃ em bovinos *Bos indicus* (Nelore) confinados em baias sem (Sol) e com sombrite (50% fator filtração UV- Sombra) em período de alta insolação no verão na região Noroeste do Estado de São Paulo, recebendo diferentes dosagens de vitamina D₃ na dieta de alto concentrado (interação, $P>0,10$)

O resultado semelhante para cálcio ionizado plasmático, principalmente final, pode ser explicado pelo controle rigoroso e ajuste fino do metabolismo de cálcio pelo animal, já que o cálcio é responsável por várias funções do organismo, como traduções de sinais e atividades neuromusculares (LITTLEDIKE; GOFF, 1987). O hormônio calcitonina pode participar nesta regulação e tem sido responsável por seqüestrar o cálcio do sangue e armazená-lo no fígado como também em outros tecidos, quando os níveis de cálcio sanguíneo são elevados (BOLEMAN et al., 2004). Suplementação com doses maiores, por via oral na dieta, têm aumentado o cálcio ionizado plasmático em bovinos (SWANEK et al., 1999), porém não em cordeiros (BOLEMAN et al., 2004). Outros trabalhos mensurando cálcio plasmático também não verificam elevação com suplementação de vitamina D₃ e/ou metabólitos (TIPTON et al., 2007; LAWRENCE et al., 2006; CHO et al., 2006; RENTFROW et al., 2004; BOLEMAN et al., 2004; PEDREIRA et al., 2003).

Por outro lado, a proteção à luz solar através da tela sombrite foi efetiva ($P=0,02$) para aumentar concentração de cálcio muscular total dos animais, quando comparado aos animais mantidos em baias sem proteção à insolação (Tabela 5). A suplementação de vitamina D₃ no período próximo ao abate não foi capaz de modificar a concentração de cálcio muscular.

Uma possibilidade para explicar o maior depósito de cálcio na musculatura dos animais submetidos à limitação de insolação poderia estar relacionada à uma concentração mais baixa de 25(OH)D₃ no soro sanguíneo. Esta condição tem sido relacionada com um aumento do hormônio da paratireóide (PTH) e mobilização de cálcio dos ossos caracterizando hiperparatireoidismo secundário. Em modelos de hiperparatireoidismo severo, relacionados com problemas renais e níveis baixos de 1,25(OH)₂D₃ têm sido relatados casos de calcificação de tecidos moles (TAMAGAKI et al., 2006; ZITTERMAN et al., 2007).

A vitamina D₃ poderia ter seu efeito sobre a maciez da carne relacionado efetivamente com a concentração de cálcio muscular sem a ocorrência de mudança no cálcio plasmático (WIEGAND et al., 2002). Concentrações mais elevadas de cálcio no músculo têm potencial para aumentar a atividade do sistema das calpaínas na degradação miofibrilar, como observado em marinações com sais deste cátion (WHIPPLE; KOOHMARAIE, 1992). Por sua vez, a degradação protéica acarretaria em maior taxa e extensão de fragmentação das miofibrilas e maiores índices de fragmentação miofibrilar.

Tabela 5 – Quadrado médio mínimo de cálcio muscular total ($\mu\text{g/g}$ de músculo úmido) nas diferentes suplementações para os animais expostos à luz solar e protegidos por sombrite imediatamente após o abate*

Suplementação	Condição de Sombreamento	
	<i>Sol</i>	<i>Sombra</i>
<i>Controle</i>	$53,7 \pm 7,6$	$63,1 \pm 7,6$
$2 \times 10^6 \text{ UI (2 d)}$	$50,1 \pm 7,6$	$67,7 \pm 7,6$
$2 \times 10^6 \text{ UI (8 d)}$	$55,6 \pm 8,2$	$73,5 \pm 7,6$
Média	$53,1^a \pm 4,5$	$68,1^b \pm 4,4$

*Média $\pm$ erro padrão (efeito de sombreamento, $P=0,02$)

^{a,b} Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($P<0,05$)

Houve interação entre suplementação com vitamina D₃ e exposição solar quando foi determinado o Índice de Fragmentação Miofibrilar (MFI) para a carne dos animais do experimento (Figura 6 e 7).

No caso da determinação de MFI em amostras congeladas considerando os dias 1 e 21 de maturação (Figura 6), verificou-se comportamento diferenciado das dosagens de vitamina D₃ para animais com maior insolação (sem sombrite), sendo que ocorreu maior MFI para a dosagem mais elevada, isto é período mais prolongado de suplementação ($P<0,01$), quando comparado com a menor dosagem. Não houve diferença entre o grupo sem suplementação com os demais tratamentos. A diferença de comportamento não foi verificada entre as diferentes dosagens de vitamina D₃ nas amostras de carne congelada proveniente de animais que foram protegidos da exposição solar ($P>0,05$). Valores menores de MFI para os animais recebendo a menor dosagem de vitamina D₃ foi determinado nas amostras provenientes de animais que não estavam protegidos da exposição aos raios solares comparado àqueles que estavam em baias com sombrite ($P<0,01$).

Figuras 6 - Índice de Fragmentação Miofibrilar (MFI) entre os níveis de suplementação de vitamina D₃ e entre as condições de armazenamento nas carnes congeladas em Nitrogênio líquido dos dias 1 e 21 de maturação (interação, $P=0,04$). ^{a,b}Letras minúsculas diferentes entre os níveis de suplementação diferem estatisticamente ($P<0,05$). ^{A,B}Letras maiúsculas diferentes entre as condições de armazenamento diferem estatisticamente ($P<0,05$)

Quando foram analisadas as amostras frescas, considerando os dias 7 e 21 de maturação, novamente foi verificada uma diferenciação no comportamento das dosagens de vitamina D₃ para carne de animais submetidos à maior exposição aos raios solares (Figura 7). Maior MFI foi verificado para a dosagem alta de vitamina D₃ comparada aos valores obtidos para a carne de animais sem suplementação com vitamina ($P<0,05$). O menor nível de suplementação apresentou MFI semelhante à dosagem mais alta e não resultou em maior fragmentação comparado com a ausência de suplementação ($P>0,05$). Nenhuma diferença foi observada para as dosagens dentro das amostras provenientes de animais protegidos da exposição solar pelo sombrite ($P>0,05$). Dentro das dosagens, a suplementação mais prolongada foi a única condição que apresentou diferença no MFI para o conjunto dias 7 e 21 quando comparadas os grupos de exposição solar, com índices mais elevados para a carne de animais com maior exposição ($P<0,05$).

Figuras 7 - Índice de Fragmentação Miofibrilar (MFI) entre os níveis de suplementação de vitamina D₃ e entre as condições de sombreamento nas carnes frescas dos dias 7 e 21 de maturação (interação, $P=0,09$).
^{a,b}Letras minúsculas diferentes entre os níveis de suplementação diferem estatisticamente ($P<0,05$).
^{A,B}Letras maiúsculas diferentes entre as condições de sombreamento diferem estatisticamente ($P<0,05$)

Tomando os resultados em conjunto, com base no conjunto de dados para os dias 1 e 21 de maturação que refletiria o aspecto de extensão de fragmentação, podemos observar que a maior dosagem de vitamina D₃ associada à alta insolação, embora possa não alterar o MFI quando comparada aos resultados obtidos em animais protegidos da exposição solar pode superar sistemas sem suplementação. Por outro lado, os dados de 7 e 21 dias que dariam uma idéia de taxa de fragmentação, indicam que a maior dosagem de vitamina D₃ associada à alta insolação supera a fragmentação obtida para os indivíduos sem suplementação ou suplementados e protegidos da exposição à luz solar.

Fragmentação miofibrilar mais elevada para animais expostos à luz solar e suplementados com maior dosagem poderia ser explicada por maiores concentrações do hormônio ativo 1,25(OH)₂D₃ no músculo, que induziriam maior concentração de cálcio intracelular colaborando para uma maior atividade das proteases musculares. Concentração mais elevada do metabólito 25(OH)D₃ foi observada na musculatura de ovinos suplementados com vitamina d oralmente e expostos à luz solar em comparação a animais apenas com suplementação oral (HIDIROGLOU; KARPINSKI, 1989). Evidências da ação de 1,25(OH)₂D₃ em culturas de células do músculo esquelético (aves) induzindo e sustentando aumento de cálcio intracelular (CAPIATI et al., 2000;

WALTERS et al., 1987) corroboram com a idéia de impacto importante da vitamina no influxo de cálcio nas células musculares.

A suplementação de vitamina D₃ em bovinos parece ser efetiva para fragilização da estrutura miofibrilar e melhoria de textura somente quando experimentos detectaram aumento na concentração de vitamina D₃ e seus metabólitos no músculo (FOOTE et al., 2004; MONTGOMERY et al., 2000, 2002), sendo este fato mais pronunciado no caso de aumento do 1,25(OH)₂D₃ (MONTGOMERY et al., 2000).

O aumento de cálcio muscular associado a uma falta de efeito da dosagem de vitamina D₃ na fragmentação miofibrilar ou mesmo menor fragmentação para dosagens elevadas de vitamina D₃ observada para as amostras provenientes de animais protegidos da luz solar parecem apontar para uma certa discrepância nas variáveis respostas ao metabolismo de vitamina D₃. Esperava-se uma hipercalcemia e deposição de cálcio muscular em animais com maior concentração de vitamina D₃ e conseqüente incremento na fragilização miofibrilar por ação de proteases dependentes de cálcio. A hipótese que surge seria de aumento de cálcio depositado no músculo de animais decorrente de um hiperparatireoidismo relacionado à insuficiência de vitamina D₃ fotossintetizada por limitação da exposição à luz solar, portanto sem efeito nas proteases intracelulares das fibras musculares. Por outro lado, em sistemas de vitamina D₃ suficiente (fotossintetizada) haveria o acúmulo na musculatura de metabólitos da vitamina D₃ fornecida na dieta suficiente para alterar o influxo de cálcio, que já existe em concentrações elevadas no meio extracelular.

Os resultados de menor cálcio muscular total para os animais expostos à luz solar e ainda assim maior MFI desde que suplementados com a dosagem mais elevadas de vitamina D₃ poderiam estar relacionados ao estímulo do influxo de cálcio para sarcoplasma pela concentração mais elevada de vitamina D₃ e seus metabólitos na circulação e tecidos dos animais sem proteção à luz solar. Proteases cálcio dependentes são importantes na definição do MFI (KOOHMARAIE, 1992). Além disto, a suplementação em doses supranutricionais vitamina tem sido relacionada com estímulo da expressão gênica e atividade de proteases musculares (CHO et al., 2006; MONTGOMERY et al., 2004; SWANEK et al., 1999).

A análise qualitativa de eletroforese que verifica a degradação da proteína da carne, Troponina-T, não foi informativa para confirmar os efeitos de fragmentação miofibrilar observados nos resultados de MFI (Figura 8).

Figura 8 - Eletroferograma de gel de poliacrilamida 12% (37,5:1) da fração miofibrilar de músculo *Longissimus dorsi* verificando a degradação de Troponina-T em animais expostos à luz solar e portegidos por sombrite para carnes congeladas no dia 21 de maturação. **M** - Marcador molecular de proteína (SDS-PAGE Molecular Weight Standards, Broad Range); **X** - 45,0 kDa (ovalbumina); **Y** - 31,0 kDa (anidrase carbônico); **Z** - 21,5 kDa (inibidor de tripsina); **0** - Sem suplementação; **2** - Com 2×10^6 UI de vitamina D₃ por 2 dias pré-abate; **8** - Com 2×10^6 UI de vitamina D₃ por 8 dias pré-abate

Embora o indicativo de maiores taxas de fragmentação para os animais em maior insolação e suplementados com dosagem maior tenha sido notado em análise de medidas repetidas no tempo (MFI), nenhum efeito ($P > 0,05$) ocorreu para as diferentes condições de suplementação e exposição à luz solar quando comparados dentro dos dias de maturação (Tabela 6). Tal resultado demonstra que não existiu diferenciação quanto à extensão da fragmentação, sendo o progresso da fragilização da estrutura muscular observado pelas diferenças entre os dias de maturação ($P < 0,001$).

Tabela 6 – Quadrado médio mínimo de Índice de Fragmentação Miofibrilar para as diferentes suplementações nos animais submetidos à luz solar e à sombra nos dias 1 e 21 (carne congelada) e 7 e 21 (carne fresca) de maturação*

Suplementação	Carne Congelada			
	<i>Sol</i>		<i>Sombra</i>	
	Dia 1		Dia 21	
<i>Controle</i>	18,6 ± 1,5	19,1 ± 1,5	22,7 ± 1,5	26,6 ± 1,5
<i>2 X 10⁶ UI (2 d)</i>	15,4 ± 1,5	20,8 ± 1,5	19,5 ± 1,5	26,9 ± 1,5
<i>2 X 10⁶ UI (8 d)</i>	20,3 ± 1,6	19,6 ± 1,5	26,5 ± 1,6	25,6 ± 1,5
Média	19,0^a ± 0,7		24,6^b ± 0,7	
	Carne Fresca			
	Dia 7		Dia 21	
<i>Controle</i>	13,7 ± 1,7	14,8 ± 1,7	23,0 ± 1,7	25,2 ± 1,7
<i>2 X 10⁶ UI (2 d)</i>	12,6 ± 1,7	13,1 ± 1,7	26,6 ± 1,7	24,8 ± 1,7
<i>2 X 10⁶ UI (8 d)</i>	16,4 ± 1,8	13,3 ± 1,7	28,2 ± 1,8	23,4 ± 1,7
Média	14,0^a ± 1,2		25,2^a ± 1,2	

*Média ± erro padrão (efeito de maturação para carne congelada e fresca, P<0,0001)

^{a,b}Letras sobrescritas minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05)

Os dados de força de cisalhamento (Tabela 7) não mostraram qualquer efeito da suplementação com vitamina D₃ ou do nível de exposição à luz solar ($P>0,05$). O processo de amaciamento durante a maturação, medido pela força de cisalhamento, ocorreu independente do tratamento ($P<0,01$) a que os animais foram submetidos antes do abate.

Tabela 7 – Quadrado médio mínimo de força de cisalhamento (kgf) para as diferentes suplementações nos animais expostos à luz solar e protegidos por sombreamento nos dias 1, 7 e 21 de maturação*

Suplementação	Dia 1		Dia 7		Dia 21	
	<i>Sol</i>	<i>Sombra</i>	<i>Sol</i>	<i>Sombra</i>	<i>Sol</i>	<i>Sombra</i>
<i>Controle</i>	9,6 ± 1,0	10,7 ± 1,0	8,3 ± 1,0	8,9 ± 1,0	6,5 ± 1,0	7,4 ± 1,0
<i>2 X 10⁶ UI (2 d)</i>	11,0 ± 1,0	10,8 ± 1,0	10,1 ± 1,0	9,2 ± 1,0	7,0 ± 1,0	7,2 ± 1,0
<i>2 X 10⁶ UI (8 d)</i>	9,2 ± 1,0	10,9 ± 1,0	7,1 ± 1,0	9,5 ± 1,0	5,5 ± 1,0	7,2 ± 1,0
Média	10,4^a ± 0,5		8,8^b ± 0,5		6,8^c ± 0,5	

*Média ± erro padrão (efeito de maturação, P<0,0001)

^{a,b}Letras sobrescritas minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05)

A inexistência de diferença nos valores de MFI e força de cisalhamento observados com a suplementação de vitamina D₃ pode ser atribuída às limitações do sistema enzimático responsável pela fragmentação e amaciamento da carne, como: tipo biológico (raça Nelore) e idade (acima dos 30 meses) dos animais usados neste experimento. Animais *Bos indicus* e velhos têm sido caracterizados por possuir maior impacto inibitório de calpastatina, quantidade e insolubilidade de colágeno ou diâmetros e áreas de fibras musculares quando comparados a animais de outras raças *Bos taurus* e jovens (WHEELER et al., 1990; WHIPPLE et al., 1990; SHACKELFORD et al., 1991, 1994; RUBENSAM et al., 1998, BALEY, 1985; BAILEY; SIMS, 1977; LIRA, 1997; CORÓ et al., 1999; SMITH, 1988). Os trabalhos que obtiveram sucesso na melhoria de maciez através da suplementação com vitamina D₃ utilizaram animais *Bos taurus* (MONTGOMERY et al., 2000; SWANEK et al., 1999; KARGES et al., 2001).

Pesquisas com a proposta de acelerar a degradação *postmortem* e o amaciamento da carne utilizando animais com limitações biológicas ao processo de proteólise ou diminuição da sua contribuição na maciez final tais como: bovinos com participação *Bos indicus* no genótipo (TIPTON et al., 2007; LAWRENCE et al., 2006; PEDREIRA et al., 2003), vacas velhas de descarte (CARNAGEY et al., 2008b; CHO et al., 2006; SELL et al., 2004) e cordeiros calipígio (WIEGAND et al., 2001), não têm obtido os resultados ligados ao aumento da concentração de cálcio plasmático e muscular, assim como diminuição da força de cisalhamento.

A carne dos animais protegidos da exposição à luz solar apresentou maior perdas totais após cozimento ($P=0,06$) do que observada na carne dos animais expostos de forma direta à luz solar (Figura 9). Não foram observadas diferenças nas perdas totais entre carnes maturadas nos dias 1 (29,64%) e 21 (28,98%), resultado inesperado embora observado em outros relatos (PEDREIRA et al., 2003).

Figura 9 – Quadrado médio mínimo da porcentagem de perdas totais para os animais expostos à luz solar e protegidos por sombrite (efeito de sombreamento, $P=0,06$) e para os dias de 1, 7 e 21 de maturação (efeito de maturação, $P<0,01$). ^{a,b}Letras minúsculas diferentes entre as condições de sombreamento diferem estatisticamente ($P<0,05$). ^{A,B}Letras maiúsculas diferentes entre os dias de maturação diferem estatisticamente ($P<0,05$)

Dentro do efeito de sombreamento, a pequena diferença em perdas totais poderia advir da diferença de cálcio total entre os músculos (Tabela 5) de animais submetidos à maior insolação (53,1 μg) e protegidos com sombrite (68,1 μg). Existem trabalhos relatando cozimento mais rápido para animais com maiores concentrações de cálcio no músculo, o que geraria maiores perdas por cozimento (LAWRENCE et al., 2003).

Embora a suplementação de vitamina D₃ não tenha modificado ($P>0,05$) perdas totais neste experimento, existem relatos de maiores concentrações de água livre no músculo de bovinos recebendo dosagens elevadas de vitamina D₃ (KARGES et al., 2001; STRYDOM et al., 2007) como também maiores perdas de água pelo descongelamento e gotejamento (STRYDOM et al., 2007).

Todos os parâmetros de cor da carne apresentados mostraram efeito da suplementação com vitamina D₃ (L^* , $P=0,065$; a^* e b^* , $P<0,02$) e do momento de amostragem *postmortem* (L^* , a^* e b^* , $P<0,01$ – Tabela 8).

Tabela 8 - Efeito da suplementação de vitamina D₃ e período *postmortem* sobre os valores de cor L^* , a^* e b^* ¹

Horas <i>postmortem</i>	Controle	2 x 10 ⁶ UI (2 d)	2 x 10 ⁶ UI (8 d)	Média
Valor de L^*				
0 h	30,9 ± 0,6	29,5 ± 0,6	31,6 ± 0,6	30,7^A ± 0,4
1 h	30,4 ± 0,6	29,2 ± 0,6	30,6 ± 0,6	30,1^A ± 0,4
24 h	33,5 ± 0,6	32,6 ± 0,6	34,6 ± 0,6	33,6^B ± 0,4
Média	31,6^{ab} ± 0,5	30,5^a ± 0,5	32,3^b ± 0,5	-
Valor de a^*				
0 h	14,9 ± 0,7	15,4 ± 0,7	17,3 ± 0,7	15,9^A ± 0,4
1 h	14,5 ± 0,7	14,5 ± 0,7	15,2 ± 0,7	14,7^B ± 0,4
24 h	17,0 ± 0,7	17,5 ± 0,7	18,6 ± 0,7	17,7^C ± 0,4
Média	15,5^a ± 0,4	15,8^a ± 0,4	17,1^b ± 0,4	-
Valor de b^*				
0 h	2,5 ± 0,4	2,9 ± 0,4	4,1 ± 0,4	3,2^A ± 0,2
1 h	2,8 ± 0,4	2,8 ± 0,4	3,7 ± 0,4	3,1^A ± 0,2
24 h	4,7 ± 0,4	4,9 ± 0,4	5,9 ± 0,4	5,2^B ± 0,2
Média	3,4^a ± 0,2	3,6^a ± 0,2	4,5^b ± 0,2	-

¹Média ± erro padrão

L^* -Luminosidade (Suplementação, P=0,06; Horas *postmortem*, P<0,0001)

a^* -Cromaticidade, varia de verde à vermelho (- a^* ---+ a^*); (Suplementação, P=0,02; Horas *postmortem*, P<0,0001)

b^* -Cromaticidade, varia de azul à amarelo (- a^* ---+ a^*); (Suplementação, P<0,001; Horas *postmortem*, P<0,0001)

Valores em parênteses () representam o erro padrão

^{a,b}Letras sobrescritas minúsculas diferentes entre os níveis de suplementação na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05)

^{A,B}Letras sobrescritas maiúsculas diferentes entre os dias de maturação na mesma coluna diferem estatisticamente (P<0,05)

A suplementação supranutricional com 2x10⁶ UI de vitamina D₃ por 8 dias causou aumento no valor de L^* quando comparado ao corte de carne de animais que foram suplementados com 2x10⁶ UI de vitamina D₃ por 2 dias, embora não tenha diferido dos animais sem vitamina na dieta. Para as variáveis a^* e b^* , a dosagem elevada de vitamina D₃ foi efetiva para o aumento daqueles valores do croma. Entretanto, valores de a^* e b^* foram semelhantes entre as carnes de animais recebendo menor dosagem de vitamina D₃ e nenhuma suplementação.

De modo geral, os valores de L^* , a^* e b^* mostraram-se superiores para os animais que receberam maior suplementação de vitamina D₃. Esta superioridade para a maior dosagem pode ser devido à atividade antioxidativa da vitamina D₃ na maior dosagem (LAHUCKY et al., 2007).

Em bovinos suplementados com vitamina D₃ foram relatados maiores valores de L^* (STRYDOM et al., 2007) e maior tempo de prateleira (estabilidade de cor vermelho-cereja) (VARGAS et al., 1999). Por outro lado, outros autores relataram ausência de efeito da suplementação (REILING; JOHNSON, 2003; RENTFROW et al., 2004; TIPTON et al., 2007; LAWRENCE et al., 2006).

A exposição à luz solar foi capaz de tornar a carne dos animais mais amarela (valores de b^* igual 4,06) do que a carne de animais oriundos de sombreamento (valores de b^* igual 3,56) ($P=0,04$). Por outro lado, somente a luminosidade (valores de L^*) das carnes de animais em diferentes condições de exposição à luz solar foi modificada ao decorrer das horas *postmortem* ($P=0,01$; Figura 10).

Figura 10 – Quadrado médio mínimo dos valores de L^* para os animais no sol e na sombra ao longo das horas *postmortem* (interação; $P=0,01$). ^{a,b}Letras minúsculas diferentes entre as horas *postmortem* diferem estatisticamente ($P<0,05$). ^{A,B}Letras maiúsculas diferentes entre as condições de sombreamento diferem estatisticamente ($P<0,05$).

Analisando os animais sem proteção contra luz solar pode-se observar valores de L^* inferiores à 1 hora, superiores às 24 horas e intermediários à 0 horas *postmortem*. Nos animais com sombrite, os valores de L^* se mantêm semelhantes à 0 e 1 hora *postmortem*, enquanto que às

24 horas *postmortem* os valores são maiores. Na última hora *postmortem*, 24 horas, os animais expostos à luz solar superam os animais sombreados para os valores de L^* , indicando uma carne mais escura para os últimos.

A atividade antioxidativa da vitamina D₃, provavelmente em maiores concentrações nos músculos de animais expostos à luz solar, pode ser a explicação para uma maior luminosidade da carne às 24 horas em relação à 1 hora *postmortem* (LAHUCKY et al., 2007). No segundo caso, menor luminosidade para os animais com proteção contra luz solar e adicionalmente a coloração menos amarelada relatada mais acima, podem ser atribuídas à atividade pró-oxidativa do cálcio muscular, encontrado em maiores concentrações nestes animais (LAWRENCE et al., 2003).

Valores de L^* 1 e 24 horas *postmortem* podem refletir a rapidez e extensão da acidificação da carne. Por sua vez, o pH pode definir a atividade proteolítica *postmortem*. Portanto, foram analisadas as correlações entre valores de L^* e pH, L^* e perdas totais, bem como do pH com força de cisalhamento (Tabela 9). No entanto, nenhuma correlação entre os parâmetros de interesse foi significativa ($P>0,05$) indicando que pH não influenciou os resultados de força de cisalhamento, e que os valores de L^* não refletiram diferenças nas perdas totais.

Tabela 9 - Correlações de Força de Cisalhamento e Perdas Totais com pH e valores L^* de cor

Parâmetros	pH 3 horas	pH 24 horas	L^* 1 hora	L^* 24 horas
L^* 1 hora	-0,13 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-	-
PT dia 1	-	-	-	-0,09 ^{ns}
PT dia 7	-	-	-	0,05 ^{ns}
PT dia 21	-	-	-	-0,11 ^{ns}
FC dia 7	0,05 ^{ns}	-	-	-
FC dia 21	-0,07 ^{ns}	-	-	-

ns - $P>0,05$

PT significa Perdas Totais

FC significa Força de Cisalhamento

1,7 e 21 – Dias de maturação

4.4 Conclusão

A exposição à luz solar pode interagir com a suplementação com vitamina D₃ e alterar as respostas musculares, enquanto que somente a suplementação com vitamina D₃ pode não ser efetiva para aumentar o amaciamento da carne. A suplementação com dosagem elevada de vitamina D₃ pode alterar a coloração da carne bovina e a limitação à exposição dos raios solares podem também afetar outras variáveis de qualidade.

Referências

AMSA. AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. **Guidelines for cookery and sensory evaluation of meat**. Illinois: National Livestock and Meat Board, 1978. 24p.

BEITZ, D.; TRENKLE, A.; PARRISH, F.; MONTGOMERY, J.; HORST, R. Feeding of vitamin D₃ is a potential method to improve tenderness of beef. **Dairy Report**, Iowa State University, DSL. 145. 4p. 1997. Disponível em:

<<http://extension.iastate.edu/Pages/dairy/report97/products/dsl-145.pdf>> Acesso em: 21 jan.2002.

BAILEY, A.J. The role of collagen in the development of muscle and relationship to eating quality. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.60, n.6, p.1580-1587, 1985

BAILEY, A.J.; SIMS, T.J. Meat tenderness: distribution of molecular species of collagen in bovine muscle. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.28, n.6, p. 565-570, 1977.

BOLEMAN, C.T.; MCKENNA, D.R.; RAMSEY, W.S.; PEEL, R.K.; SAVELL, J.W. Influence of feeding vitamin D₃ and aging on the tenderness of four lamb muscles. **Meat Science**, Barking, v.67, p.185-190, 2004.

CAPATI, D.A.; VAZQUEZ, G. INON, M.T.T.; BOLAND, R.L. Role of protein kinase C in 1,25(OH)₂-vitamin D₃ modulation of intracellular calcium during development of skeletal muscle cells in culture. **Journal of Cellular Biochemistry**, New York, v.77, p.200-212, 2000.

CARNAGEY, K.M.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.; WERTZ-LUTZ, A.E.; HORST, R.L.; BEITZ, D.C. Use of 25-hydroxyvitamin D₃ and vitamin E to improve tenderness of beef from the *Longissimus dorsi* of heifers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.86, p.1649-1657, 2008a.

CARNAGEY, K.M.; HUFF-LONERGAN, E.J.; LONERGAN, S.M.; TRENKLE, A.; HORST, R.L.; BEITZ, D.C. Use of 25-hydroxyvitamin D₃ and dietary calcium to improve tenderness of beef from the round of beef cows. **Journal of Animal Science**, Albany, v.86, p.1637-1648, 2008b.

CHO, Y.M.; CHOI, H.; HWANG, I.H.; KIM, Y.K.; MYUNG, K.H. Effects of 25-hydroxyvitamin D₃ and manipulated dietary cation-anion difference on the tenderness of beef from cull native Korean cows. **Journal of Animal Science**, Albany, v.84, p.1481-1488, 2006.

CORÓ, F.A.G.; YOUSSEF, E.Y.; SHIMOKOMAKI, M. Carne do zebu: o que está atrás da sua textura? **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n.271, p.28-34, 1999.

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**, Chicago, v.43, p.1177-1180, 1978.

DELGADO, E. F.; AGUIAR, A.P.; ORTEGA, E.M.M.; SPOTO, M.H.F.; CASTILLO, C.J.C. Brazilian consumers perception of tenderness of beef steaks classified by shear force and taste. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.63, n.3, p.232-239, 2006.

ESCOBEDO, J.F.; GOMES, E.N.; OLIVEIRA, A.P.; SOARES, J. Radiações solares UV, PAR e IV: I-estimativa em função da global. **Avances en energias renovables y medio ambiente**, Salta, v.10, p.79-86, 2006.

FOOTE, M.R.; HORST, R.L.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H.; PARRISH JR, F.C.; BEITZ, D.C. The use of vitamin D₃ and its metabolites to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.82, p.242-249, 2004.

GOLL, D.E. Role of proteinases and protein turnover in muscle growth and meat quality. **Proceedings of Reciprocal Meat Conference**, v.44, p.25-33, 1991.

HIDIROGLOU, M.; PROULX, J.G.; ROUBOS, D. 25-Hydroxyvitamin D in plasma of cattle. **Journal Dairy of Science**, Lancaster, v.62, p.1076-1080, 1979.

HIDIROGLOU, M.; KARPINSKI, K. Providing vitamin D to confined sheep by oral supplementation vs ultraviolet irradiation. **Journal of Animal Science**, Albany, v.67, p.794-802, 1989.

HO, C.Y.; STROMER, M.H.; ROBSON, R.M. Identification of the 30 kDa polypeptide in post mortem skeletal muscle as a degradation product of Troponin-T. **Biochimie**, Paris, v.76, p.369-375, 1994.

KARGES, K.; BROOKS, J.C.; GILL, D.R.; BREAZILE, J.E.; OWENS, F. N.; MORGAN, J. B. Effects of supplemental vitamin D₃ on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and muscle properties of beef steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.11, p.2844-2850, 2001.

KOOHMARAIE, M. The role of Ca²⁺-dependent proteases (calpains) in postmortem proteolysis and meat tenderness. **Biochimie**, Paris, v.74, p.239, 1992.

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

- LAHUCKY, R.; BAHIELKA, I.; KUECHENMEISTER, U.; VASICKOVA, K.; NUERNBERG, K.; ENDER, K.; NUERNBERG, G. Effects of dietary supplementation of vitamins D₃ and E on quality characteristics of pigs and *Longissimus* muscle antioxidative capacity. **Meat Science**, Barking, v.77, p.264–268, 2007.
- LAWRENCE, T.E.; DIKEMAN, M.E.; HUNT, M.C.; KASTNER, C.L.; JOHNSON, D.E. Effects of calcium salts on beef *Longissimus* quality. **Meat Science**, Barking, v.64, p.299–308, 2003.
- LAWRENCE, R.W.; DOYLE, J.; ELLIOTT, R.; LOXTON, I.; MCMENIMAN, J.P.; NORTON, B.W.; REID, D.J.; TUME, R.W. The efficacy of a vitamin D₃ metabolite for improving the myofibrillar tenderness of meat from *Bos indicus* cattle. **Meat Science**, Barking, v.72, p.69–78, 2006.
- LITTLEDIKE, E.T.; GOLF, J. Interactions of calcium, phosphorus, magnesium and vitamin D that influence their status in domestic meat animals. **Journal of Animal Science**, Albany, v.65, p.1727-1743, 1987.
- LIRA, G.M. Influência do colágeno sobre a textura de carnes. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.11, n.48, p.12-18, 1997.
- MONTGOMERY, J.L.; PARRISH JR, F.C.; BEITZ, D.C.; HORST, R.L.; HUFFLONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H. The use of vitamin D₃ to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.78, p.2615–2621, 2000.
- MONTGOMERY, J.L.; CARR, M.A.; KERTH, C.R.; HILTON, G.G.; PRICE, B.P.; GALYEAN, M.L.; HORST, R.L.; MILLER, M.F. Effect of vitamin D₃ supplementation level on the postmortem tenderization of beef from steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v.80, p.971–981, 2002.
- MONTGOMERY, J.L.; KING, M.B.; GENTRY, J.G.; BARHAM, A.R.; BARHAM, B.L.; HILTON, G.G.; BLANTON, J.R.; HORST, JR., R.L.; GALYEAN, M.L.; MORROW, K.J. WESTER, JR., D. B.; MILLER, M. F. Supplemental vitamin D₃ concentration and biological type of steers. II. Tenderness, quality, and residues of beef. **Journal of Animal Science**, Albany, v.82, p.2092-2104, 2004
- MORGAN, J.B.; SAVELL, J.W.; HALE, D S.; MILLER, R.K.; GRIFFEN, D.B.; CROSS, H.R.; SHACKLEFORD, S.D. National beef tenderness survey. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.69, n.8, p.3274-3283, 1991a.
- MORGAN, J.B.; MILLER, R.K.; MENDEZ, F.M.; HALE, D.S.; SAVELL, J.W. Using calcium chloride injection to improve tenderness of beef from mature cows. **Journal of Animal Science**, Albany, v.69, p.4469-4476, 1991b.
- NAKAMURA, R. Estimation of water-extractable Ca in chicken breast muscle by atomic absorption. **Analytical Biochemistry**, New York, v.53, n.2, p.531-538, 1973.

PEDREIRA, A.C.M.S.; LUCHIARI FILHO, A.; LEITE, V.B.O.; CARVALHO, M.H. Quality characteristics of *Longissimus dorsi* muscle from *Bos indicus* animals treated with vitamin D₃. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.60, n.4, p.637-642, 2003.

REILING, B.A.; JOHNSON, D.D. Effects of implant regimens (trenbolone acetate-estradiol administered alone or in combination with zeranol) and vitamin D₃ on fresh beef color and quality. **Journal of Animal Science**, Albany, v.81, p.135-142, 2003.

RENTFROW, G.; BREWER, M.S.; CARR, T.R.; BERGER, L.A.; MCKEITH, F.K. The effects of feeding elevated levels of vitamins D₃ and E on beef quality. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v.15, p.205-223, 2004.

ROBBINS, K.; JENSEN, J.; RYAN, K. J.; HOMCO-RYAN, C.; MCKEITH, F. K.; BREWER, M. S. Consumer attitudes towards beef and acceptability of enhanced beef. **Meat Science**, Barking, v.65, p.721-729, 2003.

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**, Campinas, v.18, n.4, p.405-409, 1998.

SAS Institute **SAS Language and procedures**: usage. Version 8.1. Cary: SAS Institute, 2000.

SCANGA, J.A.; BELK, K.E.; TATUM, J. D.; SMITH, G.C. Supranutritional oral supplementation with vitamin D₃ and calcium and the effects on beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.4, p.912-918, 2001.

SELL, N.R.; MIKEL, W.B.; XIONG; Y.L.; BEHREND, J.M. Vitamin D₃ supplementation of cull cows: Effects on *Longissimus* and *Semitendinosus* muscle tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.82, p.225-230, 2004.

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

SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M.; CUNDIFF, L.V.; GREGORY, K.E.; ROHRER, G.A.; SAVELL, J.W. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine post rigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner Bratzler shear force, retail product yield and growth rate. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 72, p. 857-863, 1994.

SMITH, G.C. USDA Maturity indices and palatability of beef rib steaks. **Journal of Food Quality**, Westport, v.11, n.3, p.1-13, 1988.

STRYDOM, P.E.; FRYLINCK, L.; MARAIS, G.L. Supplemental vitamin D₃ and electrical stimulation to reduce the effect of a beta agonist on meat quality. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 53., 2007 **Proceedings...2007**.

SWANEK, S.S.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D.R.; STRASIA, C.A.; DOLEZAL, H. G.; RAY, F.K. Vitamin D₃ supplementation of beef steers increases *Longissimus* tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.77, n.4, p.874-881, 1999.

TAMAGAKI, K.; YUAN, Q.; OHKAWA, H.; IMAZEKI, I.; MORIGUCHI, Y.; IMAI, N.; SASAKI, S.; TAKEDA, K.; FUKAGAWA, M. Severe hyperparathyroidism with bone abnormalities and metastatic calcification in rats with adenine-induced uraemia. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Cidade, v.21, p.651–659, 2006.

TIPTON, N.C.; KING, D.A.; PASCHAL, J.C.; HALE, D.S.; SAVELL, J.W. Effects of oral vitamin D₃ supplementation and supplement withdrawal on the accumulation of magnesium, calcium, and vitamin D in the serum, liver, and muscle tissue and subsequent carcass and meat quality of *Bos indicus* influenced cattle. **Meat Science**, Barking, v.75, p.150-158, 2007.

VARGAS, D.N.; DOWN, A.E.; WEBB, D.S.; HAN, H.; MORGAN, J. B.; DOLEZL, H.G. Effects of dietary supplementation of feedlot steers with vitamin E and D₃ on live performance, carcass traits, shelf-life attributes and *Longissimus* muscle tenderness. **Animal Science Research Report**, Oklahoma State University, p.59-66, 1999. Disponível em: <<http://www.ansi.okstate.edu/research/1999rr/11.htm>> . Acesso em: 22 jan.2002.

WALTERS, M.R.; ILENCHUK, T.T.; CLAYCOMB, W.C. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ stimulates ⁴⁵Ca²⁺ uptake by cultured adult rat ventricular cardiac muscle cells. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.262, n.6, v.25, p.2536-2541, 1987.

WERTZ, A.E.; KNIGHT, T.J.; TRENKLE, A.; SONON, R.; HORST, R.L.; HUFFLONERGAN, E.J.; BEITZ, D.C. Feeding 25-hydroxyvitamin D₃ to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.82, p.1410-1418, 2004.

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

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

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**, Albany, v.68, p. 2716-2728, 1990.

WIEGAND, B.R.; PARRISH JR, F. C.; MORRICAL, D.G.; HUFF-LONERGAN, E. Feeding high levels of vitamin D₃ does not improve tenderness of callipyge lamb loin chops. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.8, p.2086-2091, 2001.

WIEGAND, B R.; SPARKS, J.C.; BEITZ, D.C.; PARRISH JR, F.C.; HORST, R.L.; TRENKLE, A.H.; EWAN, R.C. Short-term feeding of vitamin D₃ improves color but does not change tenderness of pork-loin chops. **Journal of Animal Science**, Albany, v.80, p.2116–2121, 2002.

ZITTERMANN, A.; SCHLEITHOFF, S. S.; KOERFER, R. Vitamin D and vascular calcification. **Current Opinion in Lipidology**, London, v.18, p.41–46, 2007.