Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Qualidade dos músculos *Longissimus thoracis* e *lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte: influência da estocagem em atmosfera modificada e vácuo

Priscila Robertina dos Santos

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2011

Priscila Robertina dos Santos
Engenheira Agrônoma

Qualidade dos músculos *Longissimus thoracis* e *lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte: influência da estocagem em atmosfera modificada e vácuo

Orientadora:
Prof[a]. Dra. **CARMEN JOSEFINA CONTRERAS-CASTILLO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP

Santos, Priscila Robertina dos
Qualidade dos músculos *Longissimus thoracis* e *lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte: influência da estocagem em atmosfera modificada e vácuo / Priscila Robertina dos Santos. - - Piracicaba, 2011.
157 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Armazenagem em atmosfera modificada 2. Carnes e derivados - Maciez 3. Cor 4. Embalagem de alimentos 5. Oxidação I. Título

CDD 636.213
S237q

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

À minha linda e adorada família,

Aos meus pais Aloísio Souza dos Santos e Raquel Robertina da Silva Santos, exemplos de integridade, dedicação, paciência e amor incondicional.

Aos meus irmãos Aline Robertina dos Santos e Marcus Vinícius dos Santos, com os quais posso compartilhar um amor fraternal admirável e por acreditarem em meus sonhos e me apoiarem sempre.

Aos meus avós Olimpia Robertina da Silva, Joaquim Viana da Silva, Antonio Souza dos Santos (*in memorian*) e Idália Aquino dos Santos por todo amor, carinho e apoio da melhor maneira que possa existir: através da oração à DEUS!

Ao meu namorado e melhor amigo Carlos Mario Donado-Pestana, meu companheiro em todos os momentos. Meu eterno carinho e gratidão.

Meu eterno carinho e gratidão. Sem vocês esta conquista não seria possível! Que o Senhor, Nosso DEUS os abençõe sempre!

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pelo dom da vida, pela saúde, oportunidades e vitórias alcançadas até o momento. SENHOR, lhe agradeço por ser a “minha condição” em todos os meus propósitos de vida.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP) pela excelência em minha formação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – processos nº 2009/13559-0 e nº 2010/08182-2), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ – processo nº 483251/2009-7) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro a este estudo.

À Divisão de Atendimento à Comunidade do Campus “Luiz de Queiroz” pela apoio concedido ao longo deste período.

Ao Grupo JBS-Friboi, à Bemis - Dixie Toga, Multivac do Brasil Ltda, à Linde Gases do Brasil Ltda, Cryovac do Brasil Ltda, Polimate Ltda pela doação de elementos indispensáveis para a efetivação deste trabalho, e principalmente pela confiança que depositaram no mesmo.

À minha orientadora, Prof[a]. Dra. Carmen Josefina Contreras Castillo, meu eterno agradecimento pela dedicação, confiança, aprendizados e oportunidades essenciais para meu futuro profissional.

Ao Prof. Dr. Eduardo Francisquine Delgado por todo o incentivo, amizade, cooperação e parceria no andamento do projeto.

À Prof[a]. Dra. Anna Cecília Venturini pela amizade, ensinamentos práticos e contribuição no desenvolvimento desta pesquisa.

À Prof[a]. Dra. Solange Guidolin Canniatti Brazaca pela colaboração e sugestões pertinentes à esta pesquisa.

À Prof[a]. Dra. Nilda Montes Villanueva e Prof. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Dra. Marianne N. Lund Lamestch e Dra. Stine Hansen pelo auxílio na análise de oxidação protéica.

A toda equipe do Laboratório de Qualidade e Processamento de Carnes, alunos de graduação, pós-graduação e técnicos, que o conformam ou conformaram. Sucesso para todos!

A todos os professores, funcionários, alunos da pós-graduação e graduação do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, pelo convívio e essencial auxílio durante as atividades, atuando como colaboradores diretos ou indiretos.

Aos meus familiares e amigos por acreditarem em meus sonhos e compreenderem os longos períodos de ausência.

Aos meus irmãos em Cristo Jesus pela amizade, carinho e benditas orações. DEUS os abençõe sempre !

A mi nueva familia en Colombia, por el cariño y la amistad brindada y por compartir conmigo esta victoria. Muchas gracias por todo el apoyo y las oraciones.

E, por fim, a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Meus mais sinceros agradecimentos!

"Elevo os meus olhos para os montes;
de onde me virá o socorro?
O meu socorro vem do SENHOR,
Que fez o céu e a terra.
Não deixará vacilar o teu pé;
Aquele que te guarda não tosquenejará.
Eis que não tosquenejará
nem dormirá o guarda de Israel.
O SENHOR é quem te guarda;
O SENHOR é a tua sombra à tua direita.
O sol não te molestará de dia
nem a lua de noite.
O SENHOR te guardará de todo o mal;
Ele guardará a tua alma.
O SENHOR guardará a tua entrada e a tua saída,
Desde agora e para sempre".

Salmos 121

SUMÁRIO

RESUMO 11
ABSTRACT 13
LISTA DE FIGURAS.....15
LISTA DE TABELAS 19
1 INTRODUÇÃO 23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 25
2.1 A importância do Brasil no mercado mundial de carne bovina.....25
2.2 Carne de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte 26
2.3 Sistemas de embalagem 28
2.3.1 Vácuo 28
2.3.2 Atmosfera modificada.....29
2.4 Cor da carne.....32
2.5 Oxidação 35
2.5.1 Oxidação lipídica 36
2.5.1.1 Reação de oxidação.....37
2.5.1.2 Quantificação da oxidação lipídica 38
2.5.2 Oxidação protéica.....39
2.5.2.1 Reação de oxidação protéica 40
2.5.2.2 Quantificação da oxidação protéica.....42
2.6 Estrutura muscular e amaciamento da carne 44
2.6.1 Transformação do músculo em carne 46
2.6.2 Maciez da carne 47
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....51
3.1 Preparação da matéria prima 51
3.2 Sistemas de embalagem 52
3.3 Amostragem 54
3.4 Composição gasosa 54
3.5 Cor instrumental 55
3.6 pH 55
3.7 Oxidação lipídica 56

3.8 Oxidação protéica 56
3.9 Índice de fragmentação miofibrilar 57
3.10 Colágeno total 57
3.11 Perda de peso por cocção 58
3.12 Força de cisalhamento 58
3.13 Análise estatística 58
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 61
4.1 Composição gasosa 61
4.2 Cor instrumental 63
4.2.1 Curvas de reflectância 77
4.3 pH 80
4.4 Oxidação lipídica 88
4.5 Oxidação protéica 96
4.6 Índice de fragmentação miofibrilar 102
4.7 Colágeno total 110
4.8 Perda de peso por cocção 116
4.9 Força de cisalhamento 122
4.10 Relações entre os parâmetros de qualidade de carne 129
5 CONCLUSÕES 135
REFERÊNCIAS 137

RESUMO

Qualidade dos músculos *Longissimus thoracis* e *lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte: influência da estocagem em atmosfera modificada e vácuo

Como líder mundial nas exportações de carne bovina, o Brasil vem se adequando às exigências dos mercados internacionais, investindo na aplicação de novos padrões de produção e comercialização. Entre as tecnologias desenvolvidas e aplicadas pela indústria de carnes, principalmente na Europa e nos Estados Unidos, a embalagem em atmosfera modificada visa a manutenção da qualidade durante a comercialização da carne *in natura*, centralizando as operações, rotulagem e distribuição do produto, além de estender a vida útil. Baseado no exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos sistemas de embalagens a vácuo e em atmosfera modificada sobre parâmetros de qualidade de carne de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte. Músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de ambos os sexos foram porcionados em bifes, embalados a vácuo e em três tipos de atmosferas modificadas (75%O_2/25%CO_2; 60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2 e 40%CO_2/0,4%CO/59,6%N_2) e estocados sob refrigeração a 2 °C por um período de 28 dias. Foram avaliadas características de cor, pH, oxidação lipídica e protéica, índice de fragmentação miofibrilar, colágeno total; força de cisalhamento e perda de peso por cocção. Atmosferas contendo CO melhoraram a estabilidade da cor da carne *in natura* ao longo do período experimental, resultando em bifes de cor vermelha desejável. Bifes embalados em atmosfera com O_2 e vácuo apresentaram menor estabilidade da cor. Não houve interferência dos tipos de embalagem no pH da carne, no entanto, foram observados maiores valores nos bifes de macho inteiro comparado aos de fêmea de descarte. A estabilidade oxidativa, lipídica e protéica, da carne foi drasticamente afetada pela presença de O_2 na embalagem, observando-se um processo oxidativo acelerado comparado às embalagens anóxicas. Os bifes apresentaram amaciamento gradual como corroborado pelas análises de força de cisalhamento e índice de fragmentação miofibrilar nos diferentes sistemas de embalagens, porém, atmosferas contendo CO favoreceram um processo acelerado do amaciamento da carne quando comparadas ao vácuo e atmosfera com alto O_2. O teor de colágeno total e as perdas de peso por cocção dos bifes não foram afetados pelos diferentes sistemas de embalagem e o período prolongado de estocagem. Houve correlações significativas ($p<0,05$; 0,01; 0,0001) entre determinados parâmetros de qualidade da carne para ambos os músculos e sexos.

Palavras chaves: Carne bovina; Embalagem; Cor; Oxidação; Maciez

ABSTRACT

Quality of *Longissimus thoracis* e *lumborum* muscles of bulls and cows: influence of storage in modified atmosphere and vacuum

As a world leader in beef exports, Brazil has been adapting to the demands of international markets, investing in the application of new patterns of production and marketing. Among the developed and applied technologies by the meat industry, mainly in Europe and the United States, modified atmosphere packaging is designed to ensure quality during the marketing of fresh beef, centralizing operations, labeling and distribution of the product and extends life. Based on the foregoing, the present study was to evaluate the effect of vacuum packaging systems and modified atmosphere on quality parameters of meat from bulls and cows. *Longissimus thoracis* and *Longissimus lumborum* of both sexes were portioned into steaks, vacuum-packed in three types of modified atmospheres (75%O_2/25%CO_2, 60%CO_2/0.2%CO/39.8%N_2 and 40%CO_2/0.4%CO/59.6%N_2) and stored under refrigeration at 2ºC for a 28 days period. Were evaluated characteristics like color, pH, lipid and protein oxidation, myofibrillar fragmentation index, total collagen, shear force and cooking loss. Atmospheres containing CO have improved color stability of fresh beef during the trial period, resulting in a beef with the desirable red. Steaks packaged in atmosphere with O_2 and vacuum had a lower color stability. There was no interference of the packaging types in the pH of meat, however, higher values were observed in all male beef compared to the females of discard. The oxidative stability, lipidic and proteic of meat, has been drastically affected by the presence of O_2 in the pack, observing an accelerated oxidation process compared to anoxic packaging. The steaks showed gradual tenderization as corroborated by shear force and myofibrillar fragmentation index analysis, in different packaging systems, however, atmosphere containing CO favored an accelerated process of tenderization of the flesh when compared to vacuum and high-oxygen atmospheric. The total collagen content and the cooking losses by the steaks were not affected by different packaging systems and the long time of stocking. There were significant correlations ($p < 0.05$, 0.01, 0.0001) between certain parameters of meat quality for both muscles and sexes.

Keywords: Beef; Packaging; Color; Oxidation; Tenderness

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Reações da deoximioglobina com o oxigênio e monóxido de carbono 34
Figura 2 – Reação do ácido 2-thiobarbitúrico e o malonaldeído 38
Figura 3 – Principais conseqüências da oxidação de proteínas.....42
Figura 4 – Reação entre 5,5'-ditiobis (2-ácido nitrobenzóico) e grupos tióis de proteínas para formar tiolato 44
Figura 5 – Ilustração das diferentes porções do músculo *Longissimus dorsi*.....51
Figura 6 – Estocagem das amostras em câmara fria a 2ºC 53
Figura 7 – Amostragem para as diferentes análises realizadas nos bifes.....54
Figura 8 – Avaliação da composição gasosa nas bandejas sob atmosfera modificada .55
Figura 9 – Valores de L* de bifes obtidos de *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias.....72
Figura 10 – Valores de C* de bifes obtidos de *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias.....75
Figura 11 – Valores de h* de bifes obtidos de *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias.....77
Figura 12 – Curvas de reflectância de bifes obtidos de *Longissimus thoracis e Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros nos diferentes sistemas de embalagem durante estocagem a 2ºC por 28 dias.....80
Figura 13 – Curvas de reflectância de bifes obtidos de *Longissimus thoracis e Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte nos diferentes sistemas de embalagem durante estocagem a 2ºC por 28 dias.....80
Figura 14 – Valores de pH de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias.....85
Figura 15 – Valores de pH de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias.....85

Figura 16 – Valores de pH de bifes de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias 86
Figura 17 – Valores de pH de bifes de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias 86
Figura 18 – Distribuição dos valores de pH de bifes obtidos dos músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas para os diferentes sistemas de embalagem..... 87
Figura 19 – Valores de TBARS de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias 94
Figura 20 – Valores de TBARS de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias 94
Figura 21 – Valores de TBARS de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias..... 95
Figura 22 – Valores de TBARS de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias..... 95
Figura 23 – Valores de tióis livres de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias 100
Figura 24 – Valores de tióis livres de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias 101
Figura 25 – Valores de tióis livres de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias..... 101

Figura 26 – Valores de tióis livres de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias 102
Figura 27 - Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias 108
Figura 28 - Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias 108
Figura 29 - Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias 109
Figura 30 - Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias 109
Figura 31 – Distribuição dos valores de colágeno total de bifes obtidos do músculo *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte durante estocagem a 2ºc por 28 dias 115
Figura 32 – Distribuição dos valores de colágeno total de bifes obtidos do músculo *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte durante estocagem a 2ºC por 28 dias 115
Figura 33 – Distribuição dos valores de PPC de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte durante estocagem a 2ºC por 28 dias 121
Figura 34 - Distribuição dos valores de PPC de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte durante estocagem a 2ºC por 28 dias 121
Figura 35 – Distribuição dos valores de FC de bifes obtidos dos músculos *longissimus thoracis* e *longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros para os diferentes tipos de embalagem..... 128

Figura 36 – Distribuição dos valores de FC de bifes obtidos dos músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte para os diferentes tipos de embalagem 128

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sistemas de embalagem e concentrações gasosas.....53
Tabela 2 – Concentrações de O_2 e CO_2 nas embalagens de atmosfera modificada durante estocagem de bifes obtidos dos músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de ambos os sexos a 2ºC por 28 dias 62
Tabela 3 – Valores de L* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias 64
Tabela 4 – Valores de L* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias 65
Tabela 5 – Valores de C* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias 66
Tabela 6 – Valores de C* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias 67
Tabela 7 – Valores de h* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias 68
Tabela 8 – Valores de h* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias 69
Tabela 9 - Efeito da interação atmosfera modificada x localização do músculo sobre a diferença de reflectância (R630 - R580).....78
Tabela 10 – Valores de pH de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias 81

Tabela 11 – Valores de pH de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias..... 82
Tabela 12 – Valores de TBARS de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias..... 89
Tabela 13 – Valores de TBARS de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias..... 90
Tabela 14 – Valores de tióis livres de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias..... 97
Tabela 15 – Valores de tióis livres de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias..... 98
Tabela 16 – Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias..... 103
Tabela 17 – Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias..... 104
Tabela 18 – Valores de colágeno total de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias..... 111
Tabela 19 – Valores de colágeno total de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias..... 112
Tabela 20 – Valores de PPC de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias..... 117

Tabela 21 – Valores de PPC de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias 118
Tabela 22 – Valores de FC de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias 123
Tabela 23 – Valores de FC de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias 124
Tabela 24 – Coeficientes de correlação entre os parâmetros de qualidade de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis e Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias..... 132
Tabela 25 – Coeficientes de correlação entre os parâmetros de qualidade de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis e Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias 133

1 INTRODUÇÃO

Como líder mundial nas exportações de carne bovina, o Brasil vem se adequando às exigências dos mercados internacionais, investindo na aplicação de novos padrões de produção, industrialização e comercialização, visando atender a demanda crescente e a qualidade exigida pelo consumidor. Regularmente, a cadeia produtiva da carne bovina no Brasil está conformada e classificada segundo a origem dos animais, em carnes de machos castrados, machos inteiros e fêmeas de descarte. Carnes de machos castrados caracterizadas por possuírem melhores atributos de qualidade, são comumente embaladas a vácuo e destinadas ao mercado externo. Por sua vez, carnes originárias de machos inteiros e fêmeas de descarte são comercializadas no mercado interno sem diferenciação. Contudo, este tipo de carne pode representar um produto de alta valorização nos mercados, por meio do desenvolvimento e aplicação de tecnologias que repercutam diretamente na melhoria da qualidade do produto em aspectos como a cor, maciez e estabilidade oxidativa.

Na América do Norte e Europa, cerca de 80% das carnes frescas e a maioria das carnes processadas são embaladas a vácuo ou em atmosfera modificada (BRODY, 2007). No entanto, a aceitabilidade dos consumidores por músculos já porcionados e embalados a vácuo é relativamente baixa, devido à percepção da coloração escura (vermelho-púrpura) e a exudação de líquidos (JAYASINGH et al., 2001). Em contrapartida, a utilização de atmosfera modificada é uma técnica que, através da exposição da carne a misturas de gases de composição específica, controla o desenvolvimento de microrganismos, aumenta a vida-útil, mantém a estabilidade da cor desejável pelo consumidor e evita a necessidade de congelamento (CHURCH, 1994; SØRHEIM et al., 1997; JEONG ; CLAUS, 2011).

Os principais gases utilizados em atmosfera modificada são oxigênio (O_2), dióxido de carbono (CO_2) e nitrogênio (N_2) (SINGH et al., 2011). Comercialmente, embalagens para carnes bovinas contendo altas concentrações de O_2, variando entre 70 a 80%, e concentrações complementárias de CO_2, têm sido utilizadas por manterem uma cor vermelho-cereja brilhante atrativa ao consumidor e prolongar a vida útil (McMILLIN, 2008). No entanto, altas concentrações de O_2 podem promover a oxidação

lipídica (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2000; CAYUELA et al, 2004), relacionada com a descoloração e rancificação, e a oxidação protéica, reduzindo a maciez e suculência da carne (CLAUSEN et al., 2009; LUND et al., 2007a; LUND; HVIID; SKIBSTED, 2007b). No sentido de reduzir os problemas causados por essas misturas de gases, o uso de monóxido de carbono (CO) tem sido proposto em embalagens de carne fresca. Sua principal vantagem é a manutenção da cor vermelho brilhante nas carnes, evitar processos oxidativos e retardar a deterioração microbiana. Contudo, devido ao potencial efeito tóxico do CO, sua utilização gera controvérsias em alguns países (CORNFORTH; HUNT, 2008).

Entre os atributos de qualidade sensorial da carne, a maciez é considerada a característica mais importante, influenciando na satisfação do consumidor (MILLER et al., 2001; THOMPSON, 2002). Pesquisas têm demonstrado a influência de sistemas de embalagem e maturação sobre o amaciamento natural da carne. No entanto, estudos ainda são limitados no Brasil, avaliando atributos de qualidade de carne *in natura* originária de bovinos *Bos indicus*, sobre sistemas de embalagem a vácuo e atmosfera modificada, após períodos prolongados de estocagem. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos sistemas de embalagens a vácuo e em atmosfera modificada sobre parâmetros de qualidade de carne *in natura* originária de *Longissimus thoracis e Lonigssimus lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte, estocados por um período de 28 dias sob refrigeração a 2 °C.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A importância do Brasil no mercado mundial de carne bovina

No Brasil a pecuária de corte é uma atividade produtiva de relevância no contexto econômico, por gerar contribuições importantes de divisas na economia nacional. De acordo com a última estimativa realizada pelo FAO, para o ano de 2009 o efetivo de bovinos no Brasil foi considerado o 1º maior do mundo, com aproximadamente 205 milhões de cabeças, sendo o maior rebanho para fins comerciais, com abate anual de 42,7 milhões de cabeças, produzindo 9,4 milhões de toneladas de carne para esse ano (FAOstat, 2011). Esta produção permitiu ao país a posição de líder mundial nas exportações de carne bovina, com mais de um milhão de toneladas de carne, representado por 4 bilhões de dólares (FAOstat, 2011).

A carne bovina é uma commoditie heterogênea, diferenciada por características que dependem da raça do animal, da tecnologia de produção, da idade de abate, do corte e de resfriamento ou congelamento. Esses aspectos são determinantes dos preços do produto no mercado internacional, embora estes também sejam afetados por políticas de importação e exportação de cada país, incluindo barreiras sanitárias, regulamentos, tarifas, subsídios e acordos intergovernamentais que repercutem na comercialização de carne (EKBOIR et al., 2002).

Com potencialidades naturais, grandes extensões de pastagem, aumento da produção a baixo custo, avanço das atividades na região Norte do país, redução de barreiras sanitárias e esforço empresarial, o Brasil tem demonstrado ao mundo que é capaz de contribuir com a economia mundial e, principalmente, com o mercado mundial de carnes (OLIVO, 2008).

Apesar deste excelente desempenho produtivo, o Brasil ainda enfrenta restrições em uma série de mercados importantes, em função de barreiras protecionistas e da baixa qualidade de seus produtos, sendo estes aspectos determinantes nos preços pagos pelo produto no mercado internacional (VENTURINI, 2007).

2.2 Carne de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte

Regularmente, a cadeia produtiva da carne bovina no Brasil está conformada e classificada segundo a origem dos animais, em carnes de machos castrados, machos inteiros e fêmeas de descarte. Carnes de machos castrados caracterizadas por possuírem melhores atributos de qualidade, são comumente destinadas ao mercado externo. Por sua vez, carnes originárias de machos inteiros e fêmeas de descarte são comercializadas no mercado interno sem diferenciação.

O sexo do animal e sua condição sexual (inteiro ou castrado) influenciam diretamente na qualidade da carne bovina.

A produção de bovinos machos inteiros é uma alternativa viável ao produtor a fim de tornar o sistema de produção mais eficiente. O hormônio natural testosterona, proporciona uma melhor conversão alimentar, maior musculosidade e maior ganho de peso, quando comparados a machos castrados ou fêmeas (MORGAN et al., 1993; LUCHIARI FILHO, 2000; EUCLIDES FILHO et al., 2001). No entanto, as carcaças de machos inteiros, apresentam qualidade inferior devido à deficiência de gordura de cobertura (< 3,0 mm), que pode acarretar maior escurecimento superficial dos músculos e encurtamento das fibras musculares (sarcômeros) pelo frio, ocasionando uma carne menos macia quando comparada a carne de machos castrados ou fêmeas (LUCHIARI FILHO 2000; SILVA et al., 2002). Estas condições justificam, em parte, os menores valores pagos ao produtor de animais inteiros por parte dos frigoríficos.

A dureza da carne de machos inteiros é comumente associada à menor solubilidade do colágeno, o que aumenta com o avanço da maturidade e maior concentração de calpastatina no músculo, inibindo a atuação de enzimas proteolíticas (CROSS; SCHANBACHER; CROUSE, 1984; WHEELER et al., 1990; MORGAN et al., 1993).

Outro fator importante associado à qualidade de carne de machos inteiros é o pH, amplamente utilizado como um indicador potencial de maciez (YOUNG et al., 2004; PULFORD et al., 2009). Em bovinos machos inteiros é frequentemente observado valores intermediários de pH (5,8 a 6,2) diferindo dos valores normais de machos castrados e fêmeas de descarte (5,5 a 5,8), decorrente da depleção do glicogênio

muscular pela suscetibilidade ao estresse sofrido por este tipo de animais no transporte, jejum prolongado ou por outras condições pré-abate. A depleção do glicogênio muscular, reduz a produção de ácido láctico durante o período *post mortem*, resultando em carne com maior dureza. Embora pesquisas também sugiram a influência de altos valores do último pH (> 6,2) observados em machos inteiros sobre a formação de carne do tipo DFD (*Dark, Firm and Dry*), característico de carne escura, firme e seca, obtida principalmente após a total depleção do glicogênio muscular, resultando em altos valores finais de pH que contribuem, contrariamente, a uma maior maciez da carne (BELTRÁN et al., 1997; WATANABE et al., 1996; JELENÍKOVA; PIPEK; STARUCH, 2008).

Por sua vez, o abate de fêmeas de descarte é uma alternativa utilizada pelos pecuaristas, quando os animais não estão mais aptos à reprodução, seja pela idade avançada, por serem zootecnicamente inferiores, por apresentarem problemas de produção ou na entressafra do boi, sendo mais precoces na engorda e acabamento (espessura da gordura de cobertura) quando comparadas aos machos inteiros (CRANWELL et al., 1996; LUCHIARI FILHO, 2000; FIEMS et al., 2003).

A carne de fêmeas normalmente apresenta-se mais macia do que a carne de animais machos inteiros, por possuírem maior teor de gordura intramuscular e fibras musculares de menor diâmetro (CHURCH; WOOD, 1992). Segundo Xiong et al. (2007), fêmeas de descarte representam uma fonte significativa de carne para a indústria, representando aproximadamente 15% do total de gado de corte abatido nos EUA e destinadas para processamento.

Estudos indicam que fêmeas de descarte apresentam limitadas opções de mercado devido à baixa qualidade sensorial. No entanto, através de estratégias de terminação dos animais é possível aumentar o rendimento da carcaça, maciez da carne, coloração da gordura e maior flexibilidade de mercado (BOLEMAN et al., 1996; RESTLE et al., 1998; VAZ et al., 2002).

2.3 Sistemas de Embalagem

A demanda por produtos *in natura* tem contribuído para o desenvolvimento de novos sistemas de embalagem, capazes de assegurar uma vida útil de 28 a 35 dias aos produtos. A embalagem imprime a relação do consumidor com o produto, superando as funções de conter, transportar e proteger. A embalagem influencia a qualidade e a durabilidade das carnes devido à alteração da atmosfera ou ambiente ao redor do produto, interferindo na cor do produto, no tipo e extensão da deterioração microbiológica e na velocidade de oxidação dos seus componentes. No Brasil, carne bovina é comumente embalada a vácuo e comercializada no mercado externo e interno. Por outro lado, na América do Norte e Europa, cerca de 80% das carnes frescas e a maioria das carnes processadas são embaladas a vácuo ou em atmosfera modificada (BRODY, 2007), sendo esta última uma técnica de embalagem que visa a melhoria da qualidade do produto em aspectos como cor e maciez desejáveis pelo consumidor.

2.3.1 Vácuo

A embalagem a vácuo consiste em remover o ar atmosférico, diminuindo a pressão dos gases no interior da embalagem, aliado a estocagem em temperaturas na faixa de 0 a 2 °C. Este sistema de embalagem tem sido tradicionalmente utilizado para prolongar a vida útil e palatabilidade de carnes e produtos cárneos por longos períodos de transporte, armazenamento e comercialização com sucesso há muitos anos em inúmeros países (SEIDEMAN; DURLAND, 1983; HOLLEY et al., 2004; CORNFORTH; HUNT, 2008).

Dentre as propriedades das embalagens a vácuo, a mais importante é a barreira de gás (em particular a taxa de permeabilidade ao oxigênio), a baixa permeabilidade ao vapor de água (para evitar a desidratação superficial), barreira a aromas, alta resistência mecânica (para resistir ao manuseio e transporte), a soldabilidade (a fim de evitar vazamento e perda do vácuo), boa maquinabilidade, boas características de impressão e/ou transparência e custo compatível com a aplicação, podendo ser do tipo termoencolhível ou não (OLIVEIRA et al., 2006).

No entanto, a embalagem a vácuo apresenta algumas desvantagens. Devido à eliminação do ar atmosférico no interior da embalagem, a cor superficial da carne vermelho-cereja brilhante (oximioglobina) é modificada para vermelho-púrpura (deoximioglobina), limitando a aceitação de músculos inteiros ou porcionados neste sistema de embalagem pelos consumidores (MEISCHEN; HUFFMAN; DAVIS, 1987). Outra desvantagem é submeter a carne a esforços mecânicos, que podem levar à exsudação de líquidos intracelulares, facilitando o crescimento de microrganismos, além de representar perdas na aparência, peso e suculência do produto (SARANTÓPOULOS et al., 1994; EILERT; RATHJE, 2001).

No Brasil, a Portaria 145/98 do Ministério da Agricultura tornou obrigatória a distribuição refrigerada das peças desossadas de carne em embalagens a vácuo. A embalagem a vácuo, retarda o crescimento microbiano e a oxidação da mioglobina, estendendo a vida útil da carne fresca por várias semanas (GILL; JONES, 1994). Porém, a grande desvantagem na aceitação da carne a vácuo é a alta rejeição da cor arroxeada da deoximioglobina devido à ausência de oxigênio.

2.3.2 Atmosfera modificada

A utilização de embalagens com atmosfera modificada (AM) é uma tecnologia que busca a extensão da vida útil de uma gama de alimentos, dentre eles, a carne *in natura* (CAYUELA et al., 2004). Através da exposição do alimento a misturas de gases de composição específica, este sistema permite maior manutenção da cor, controla o desenvolvimento de microrganismos e a centralização das operações de embalagem, rotulagem e distribuição da carne fresca porcionada em bandeja pela indústria (BELCHER, 2006; HOLLEY; GILL, 2007), substituindo a forma tradicional de distribuição de peças inteiras a vácuo.

Como outras inúmeras técnicas de preservação de alimentos, o acondicionamento em AM foi descoberto ao acaso. No final do século XIX, o transporte marítimo de carcaças da Austrália para a Europa era feito sob refrigeração em dióxido de carbono (CO_2) sólido (gelo seco). A vida útil das carnes era mantida tanto pelo efeito conservador do resfriamento proporcionado pelo CO_2, como pelo efeito inibidor do

crescimento microbiano. O efeito preservador do CO_2 por sua ação refrigeradora era conhecido, porém seu mecanismo de ação sobre os componentes do meio cárneo era uma incógnita. Ao final da década de 30, aproximadamente 26% da carne bovina da Austrália e 60% da Nova Zelândia eram transportadas via marítima até o Reino Unido em grandes *containers* com atmosfera de CO_2. Posteriormente, no início da década de 80, com o desenvolvimento de materiais de embalagem o uso de AM foi facilitado (LAURY; SEBRANEK, 2007).

Atualmente, a AM é o sistema de embalagem mais utilizado comercialmente nos Estados Unidos e Europa para carnes frescas (BRODY, 2007). Dentre os muitos gases e/ou suas misturas empregados para a embalagem com AM, o, N_2 e CO_2 são os mais utilizados (CHURCH, 1994; SINGH et al., 2011).

O O_2 é muito importante no armazenamento de carnes *in natura*, por manter o pigmento mioglobina na sua forma oxigenada (oximioglobina), a qual proporciona a cor vermelha brilhante apreciada pelo consumidor no momento da compra (MARTÍNEZ et al., 2005). No entanto, estudos recentes têm demonstrado que a qualidade da carne bovina pode diminuir quando embalada em AM com elevada concentração de O_2. A alta concentração de O_2 prejudica o sabor (CLAUSEN; MADSEN, 2005), reduz a estabilidade da cor (GROBBEL et al., 2008), provoca o escurecimento prematuro (TØRNGREN; MADSEN, 2005) e a oxidação de ácidos graxos e colesterol (CAYUELA et al., 2004), além de permitir o crescimento de bactérias aeróbias e reduzir a vida útil dos produtos (JEREMIAH, 2001; ZAKRYS et al., 2009). Propriedades sensoriais como sabor de requentado (*warmed-over flavour*), sabor atrativo, palatabilidade, maciez e suculência são negativamente afetadas em carne embalada sobre alta concentração de O_2 (JAYASINGH et al., 2002; SØRHEIM et al., 2004; LUND et al., 2007a; CLAUSEN et al., 2009).

O CO_2 é adicionado à mistura de gases para aumentar a vida útil do produto e inibir o crescimento microbiano (McMILLIN, 2008). No geral, um mínimo de 20% CO_2 é exigido para afetar significativamente os microrganismos, porém, um aumento na taxa de CO_2, incrementa a eficiência dos gases da mistura empregada (CLAUSEN et al., 2009). Estudos têm mostrado que a baixa temperatura de estocagem pode aumentar a solubilidade do CO_2 na carne aumentando o seu potencial bacteriostático (GILL, 1988;

GILL; MOLIN, 1991). Contudo, há evidências de que altas concentrações de CO_2 (acima de 30%) podem ser pró-oxidantes, acelerando a descoloração de carnes frescas (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2002; MARTÍNEZ et al., 2005; DE SANTOS, 2007). Outra causa provável para a descoloração de carnes verificada em atmosferas com alto teor de CO_2 é seu efeito na redução do pH desses produtos, que controla a deterioração microbiana, porém promove a oxidação da mioglobina e dos lipídeos (MARTÍNEZ et al., 2005). A relação entre o aumento da oxidação lipídica e a redução do pH da carne é reforçada por Juncher et al. (2001), que observaram um decréscimo nos valores de ácido tiobarbitúrico, indicadores de rancificação lipídica na carne, com o aumento de seu pH.

O N_2 é um gás inerte, incolor, inodoro e insolúvel em gordura e água, sendo utilizado, principalmente, como gás de enchimento e/ou diluente (GILL, 1996), em substituição ao O_2, retardando a oxidação e o aparecimento do ranço. Também é usado no balanceamento dos gases para evitar o colapso das embalagens comerciais, ocasionado pela absorção/solubilização do CO_2 pela carne (CHURCH; PARSON, 1995; GILL, 1996).

O uso de CO em embalagens de carnes iniciou-se como resposta à demanda dos consumidores por carnes de coloração atrativa e com aparência de frescor, mantendo essas características por longos períodos de estocagem (HUFFMAN; RILLEY, 2007). A principal função do CO utilizado em baixas concentrações (≤ 0,4%) nas embalagens com AM é estabilizar a cor vermelha da carne, através da formação do pigmento estável carboximioglobina (HUNT et al., 2004; WILKINSON et al., 2006; VENTURINI et al., 2010). O emprego de baixas concentrações de CO e altas concentrações de CO_2, na ausência de O_2, pode duplicar a vida útil da carne por retardar a oxidação da cor e a deterioração microbiológica (JAYASINGH et al., 2001; WILKINSON et al., 2006). O uso de CO na embalagem de carnes pode estimular ainda mais uma tendência de comércio de carnes frescas, pronta para a exposição ao consumidor, sem necessidade de manipulação e/ou re-embalagem no âmbito varejista.

Nos Estados Unidos, em 2002 o CO foi classificado como *GRAS* (substância geralmente reconhecida como segura) pelo Food and Drug Administration (FDA) para uso comercial em concentrações inferiores a 0,4% em embalagens secundárias, de

transporte (*masterpack*) de carnes de todas as espécies animais. Nessas embalagens, o CO deve ser utilizado em sistema anaeróbico em combinações com CO_2 e N_2 (JOHN et al., 2005). O CO também foi aprovado para uso similar na Austrália e Nova Zelândia, onde é considerado um coadjuvante de fabricação no processamento de carnes frescas (WILKINSON et al., 2006). Posteriormente, em 2004 o FDA classificou como *GRAS* o uso de CO em concentração máxima de 0,4% em embalagens primárias de carne, nas quais a mistura de gases é insuflada diretamente sobre o alimento no interior da embalagem (DE SANTOS et al., 2007; LINARES et al., 2008).

Para alguns pesquisadores, a principal desvantagem do uso de CO é o mascaramento das condições microbiológicas, uma vez que a cor vermelha da carboximioglobina se mantém estável frente à pobre qualidade microbiológica da carne (WILKINSON et al., 2006; CORNFORTH; HUNT, 2008; VENTURINI et al. 2009). No entanto, a deterioração bacteriana das carnes pode ser evitada pelo uso de baixas temperaturas durante armazenamento e comercialização do produto. De acordo com Sebranek et al. (2006), o FDA exige que embalagens sob AM contendo CO sejam rotuladas declarando o prazo de validade claramente definido para o consumo do produto, prevista de 28 dias para carnes moídas e 35 dias para bifes frescos ou assados quando devidamente refrigerados.

Mesmo nas ocasiões em que carnes embaladas com CO tenham permanecido em temperatura inadequada e deteriorado precocemente, antes da expiração do prazo de validade, alguns sinais podem alertar os consumidores sobre a sanidade desses produtos, como o estufamento nas embalagens, a presença de odor característico de deterioração e aspecto e textura limosa ou viscosa (HUNT et al., 2007).

2.4 Cor da carne

A cor da carne fresca é um importante atributo de qualidade utilizado pelos consumidores para avaliar o frescor e salubridade, especialmente na carne vermelha, influenciando substancialmente a aceitabilidade e decisão de compra de cortes cárneos. Nos EUA, aproximadamente 15% da receita anual da indústria da carne é

perdida, devido à sua descoloração superficial (SMITH et al., 2000; MANCINI; HUNT, 2005).

A cor da carne é dependente da concentração e do estado químico dos pigmentos da carne, principalmente a mioglobina e hemoglobina, e sobre as carasterísticas físicas da carne, como as propriedades de absorver e refletir a luz (KROPF, 1993). A concentração de mioglobina do músculo varia entre e dentro das espécies e é afetada por fatores como sexo, idade, dieta do animal, além de fatores genéticos e ambientais (LIVINGSTON; BROWN, 1981).

A mioglobina é uma proteína globular complexa, formada por um polipeptídeo, a globina e por um grupo prostético, chamado heme, responsável pela sua cor (GOVINDARAJAN, 1973). Esse grupo heme consiste de um átomo central de ferro e de um anel porfirínico plano composto por quatro anéis pirrólicos, unidos por pontes metilênicas. A cor da carne fresca é particularmente dependente do estado de oxigenação e do estado de oxidação do ferro dentro do anel porfirínico da mioglobina (KROPF et al., 1985). O íon ferroso (Fe^{+2}) dos pigmentos heme pode aceitar 6 elétrons em seu orbital mais externo e formar seis ligações covalentes, quatro com os átomos de nitrogênio dos anéis pirrólicos do grupo heme e uma com a histidina, que liga o grupo heme à globina. O sexto elétron está disponível para ligação covalente com o oxigênio molecular (VENTURINI et al., 2009).

Três formas da mioglobina podem ser encontradas em carnes vermelhas *in natura*, como a deoximioglobina, oximioglobina e metamioglobina (KROPF, 1993).

Na ausência de O_2, a carne fresca assume a cor púrpura da deoximioglobina ou mioglobina reduzida, que contém o íon ferro no seu estado ferroso (Fe^{+2}) e se caracteriza pela ausência de ligante na sexta posição coordenada do grupo heme. O pigmento mioglobina é encontrado em carnes imediatamente após o corte ou em carnes embaladas a vácuo (RENERRE, 1990).

Após a exposição da carne fresca ao O_2, a oximioglobina, forma oxigenada da mioglobina ferrosa, é rapidamente formada, pela ligação do O_2 molecular ao sexto elétron disponível para ligação covalente do grupo heme (LIVINGSTON; BROWN, 1981). A oximioglobina confere uma coloração vermelho-cereja brilhante às carnes

frescas e está diretamente associada com a aceitação de carnes vermelhas pelos consumidores (FAUSTMAN; CASSENS, 1990).

A cor da carne vermelha é relativamente curta e ambas, deoximioglobina e oximioglobina, podem ser oxidadas a metamioglobina (Figura 1). Sobre baixa pressão de O_2, a oxidação do íon ferroso à forma férrica (Fe^{+3}), resulta na formação de metamioglobina (FAUSTMAN; CASSENS, 1990; MANCINI; HUNT, 2005). A cor marrom da metamioglobina é associada pelos consumidores com a falta de frescor e salubridade (TROY; KERRY, 2010). A metamioglobina pode ser reduzida à deoximioglobina pela ação de enzimas redutoras endógenas NADH dependentes. Este fenômeno é chamado de *Metamyoglobin reducing activity* (MRA) (LAWRIE, 2004).

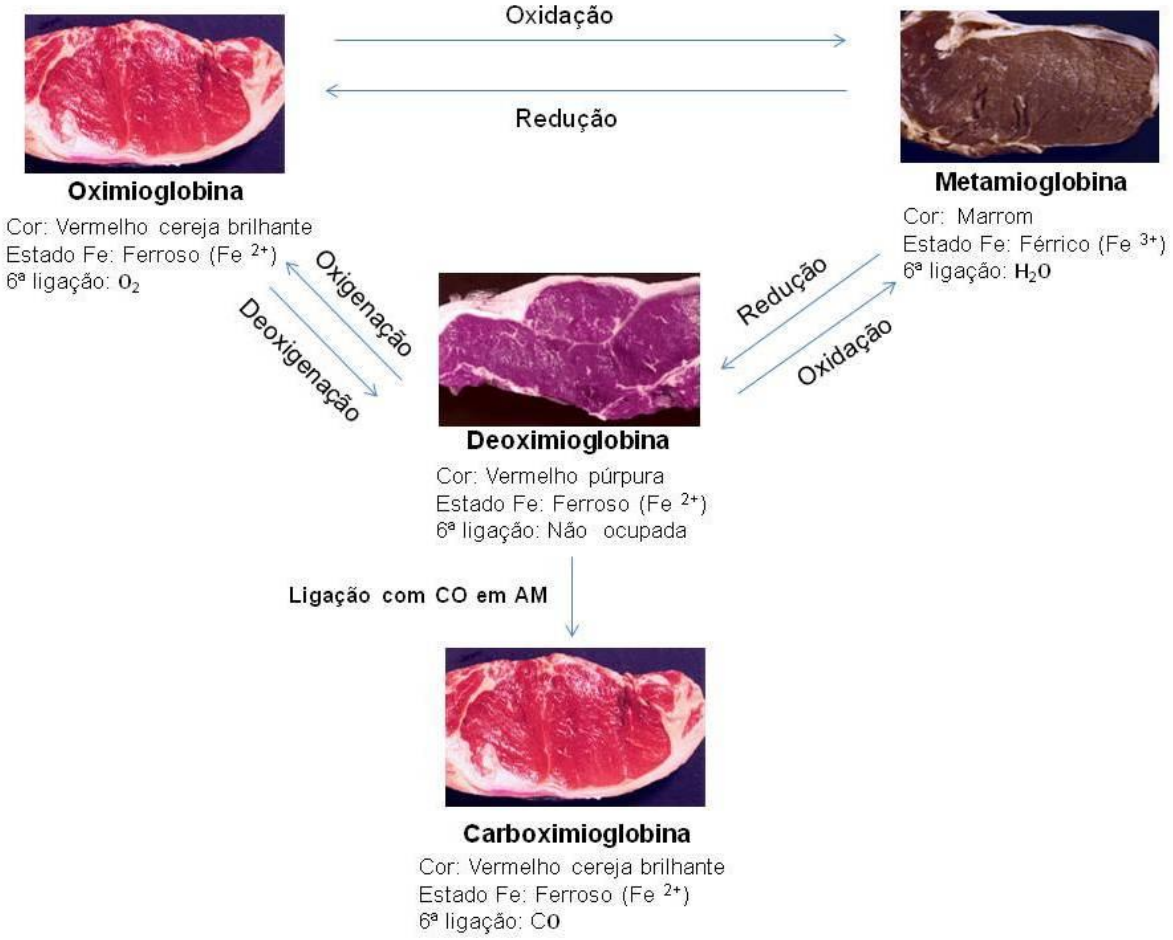

Figura 1 - Reações da mioglobina (deoximioglobina) com o oxigênio e monóxido de carbono
Fonte - GILL; GILL, 2010

A adição de baixas concentrações de CO pode eliminar os problemas de descoloração da carne estocada em atmosfera livre de O_2, por períodos prolongados, restaurando a cor vermelha através da formação de uma forte ligação com característica parcialmente iônica com o íon ferroso da mioglobina (MØLLER; SKIBSTED, 2006). Essa reação é limitada a uma fina camada superficial que corresponde à profundidade da penetração do CO (HUNT et al., 2004). A afinidade da deoximioglobina pelo CO é de 28 a 51 vezes superior à sua afinidade pelo O_2. Adicionalmente, o CO pode remover O_2 da oximioglobina, ligando-se a essa (DE SANTOS et al., 2007).

A cor do músculo depende da quantidade de oxidação ou redução da mioglobina e características superficiais da carne relacionados ao seu pH final (INSAUSTI et al., 1999). Considerando-se que a percepção da cor da carne é devida principalmente à reflexão da luz incidente, qualquer tentativa para explicar a percepção visual da carne deve considerar também as características de espalhamento e dispersão da luz pelo músculo, influenciado por fatores estruturais que dependem do grau de expansão das miofibrilas (VENTURINI et al., 2009).

Durante a estocagem, a taxa de formação de metamioglobina na superfície da carne depende de vários fatores intrínsecos (pH, tipo de músculo, animal, raça, sexo e dieta) e extrínsecos (manejo pré e pós-abate, estimulação elétrica e desossa a quente). Durante a exposição ao varejo, fatores físicos influenciam a aparência da carne fresca, como temperatura, tipo de luz, disponibilidade de oxigênio, desenvolvimento microbiano, além das condições de armazenamento (ar atmosférico, atmosfera modificada ou vácuo) (VENTURINI, 2003). Em um alimento complexo como a carne, o conhecimento das interações supracitadas contribui significativamente para a diminuição do problema de descoloração da carne (GILL; JONES, 1994).

2.5 Oxidação

Os processos oxidativos são os principais fatores não-microbiológicos envolvidos na deterioração da qualidade da carne durante o armazenamento refrigerado. A oxidação induz alterações dos lipídios e proteínas do músculo, afetando as

propriedades organolépticas e nutricionais das carnes e produtos cárneos, devido a inúmeras reações em cadeia favorecidas pela luz e oxigênio. Isto é refletido em perdas econômicas e transtornos para a saúde (McMILLIN, 1996; INSANI et al., 2008).

2.5.1 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é uma das causas mais importantes de deterioração durante o armazenamento de carnes e produtos cárneos, depois da deterioração microbiana, principalmente por sua complexidade e variabilidade (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996; MORRISSEY et al., 1998). Apesar dos lipídios serem importantes componentes dos produtos cárneos, conferindo características desejáveis de suculência, sabor e aroma, os mesmos são facilmente oxidáveis (PEARSON et al., 1983). Este processo envolve a degradação de ácidos graxos insaturados em produtos secundários como os aldeídos, cetonas, alcoóis, ácidos e hidrocarbonetos (HERAS et al., 2003), degrada vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais, além de afetar atributos sensoriais como o sabor, a cor, a textura e o valor nutritivo (AGUIRREZÁBAL et al., 2000).

Fenômenos oxidativos no músculo ocorrem imediatamente após o abate (ou mesmo no pré-abate), quando o mecanismo celular que controla a oxidação lipídica é inativado (MORRISSEY et al., 1998).

O processo de rancidez causa o desenvolvimento de sabores indesejáveis, descoloração, produção de substâncias potencialmente tóxicas como malonaldeídos e óxidos de colesterol (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996). O excesso de oxidação pode atingir um nível de rancidez onde o alimento não é aceito para o consumo humano, porém, mesmo antes desta condição ser atingida, a oxidação lipídica pode formar moléculas tóxicas com possíveis danos para a saúde humana (ZANARDI et al., 2004).

Embalagem sobre AM contendo alta concentração de O_2 está associada com aumento da oxidação lipídica durante estocagem (O'GRADY et al., 2000) e qualquer perturbação na integridade das membranas musculares, como em cortes ou moagem da carne, facilita as interações pró-oxidantes com ácidos graxos insaturados, resultando na geração de radicais livres e propagação de reações oxidativas (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996).

2.5.1.1 Reação de oxidação

Os lipídios podem ser oxidados por reações hidrolíticas, enzimáticas, fotooxidativas e autoxidativas, sendo esta última a principal reação (GUILLÉN-SANS; GUZMÁN-CHOZAS, 1998).

O processo de autoxidação inicia-se na ligação carbono-hidrogênio adjacente à dupla ligação da cadeia, podendo ser catalisado e influenciado por um grande número de fatores ambientais (oxigênio, umidade, calor e luz), pela presença de metais (cobre, ferro e manganês) e de enzimas (ADAMS, 1999) e pelo grau de insaturação dos ácidos graxos do produto (DECKER et al., 1993).

O mecanismo da oxidação lipídica é geralmente descrito como uma reação em cadeia constituída por três etapas distintas: iniciação, propagação e terminação, conforme descrito a seguir (RENERRE, 2000):

1. Iniciação:

(a) $RH + O_2 \rightarrow R\bullet + \bullet OOH$

2. Propagação:

(b) $R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$

(c) $RH + ROO\bullet \rightarrow ROOH + R\bullet$

(d) $ROOH \rightarrow RO\bullet + \bullet OH$

3. Terminação:

(e) $R\bullet + R\bullet \rightarrow R{-}R$

(f) $R\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR$

(g) $ROO\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR + O_2$

A fase da iniciação da oxidação lipídica geralmente ocorre na membrana da fração dos fosfolipídios poliinsaturados, em que ocorre a formação de radicais livres, devido a reações com iniciadores como o calor, metal ou luz (INSANI et al., 2008). Durante a fase de propagação é dado início à reação em cadeia de radicas livres e as

alterações sensoriais passam a ser perceptíveis (GUILLÉN-SANS; GUZMÁN-CHOZAS, 1998). A etapa de terminação dá origem aos produtos secundários da oxidação não reativos (aldeídos, álcoois, hexanal) que podem modificar a estrutura da membrana (MONAHAN et al., 1994), afetar negativamente o flavour e a vida de prateleira da carne (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996), além de serem considerados um potencial risco para a saúde (GUARDIOLA et al., 1996; RENERRE, 2000).

2.5.1.2 Quantificação da oxidação lipídica

Não existe nenhum método uniforme e padronizado para avaliar todas as modificações da oxidação em um alimento, entretanto existem metodologias que podem monitorar o desenvolvimento da oxidação lipídica nos mesmos. Entre as metodologias analíticas disponíveis para acompanhar e compreender o processo de oxidação lipídica em alimentos, destaca-se a quantificação das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS). Este método permite quantificar o grau de oxidação lipídica do alimento baseado na reação entre o malonaldeído (MAD) e o ácido 2-tiobarbitúrico (JO; AHN, 1998), formando um complexo cromogênio (Figura 2).

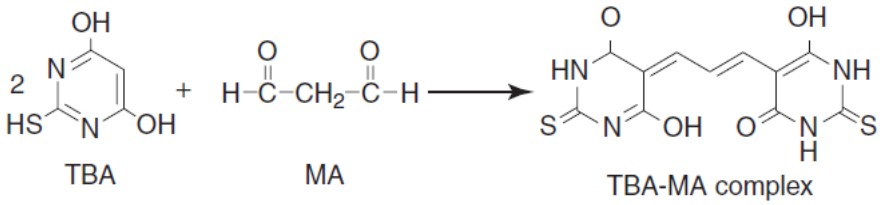

Figura 2 – Reação do ácido 2-thiobarbitúrico (TBA) e o malonaldeído (MAD), formando o composto colorido, que pode ser medido espectrofotometricamente a 532 nm
Fonte - PEGG, 2001

As substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) são preferencialmente formadas a partir da clivagem de ácidos graxos com duplas ligações. Os hidroperóxidos formados podem originar compostos contendo grupamentos carbonílicos, sendo o malonaldeído o principal alcadieno relacionado com o processo de oxidação lipídica (TARLADGIS; WATTS; YOUNATHAN, 1960).

O malonaldeído é um dialdeído de três carbonos com grupos carbonil nas posições C-1 e C-3. Pode ser encontrado em diversos alimentos, sobretudo nos gordurosos (ULU, 2004). Este composto é formado a partir da decomposição de hidroperóxidos, da oxidação secundária de compostos carbonílicos e da degradação oxidativa de aminoácidos ferro-dependentes (FERNANDEZ; PEREZ-ALVAREZ; FERNANDEZ-LOPEZ, 1997).

2.5.2 Oxidação protéica

Outra mudança que ocorre nos músculos *post-mortem* durante o armazenamento e estocagem é a oxidação de proteínas, acarretando a deterioração da qualidade da carne (XIONG, 2000; ROWE et al., 2004a). A depleção dos antioxidantes endógenos faz com que o músculo *post-mortem* fique mais suscetível à oxidação (MARTINAUD et al., 1997; XIONG, 2000).

Diferentes processos metabólicos ocorrem no tecido muscular, dando origem à formação de espécies reativas ao oxigênio (EROs), incluindo os radicais hidroxila e peroxila, ânions superóxido, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico (BUTTERFIELD et al, 1998). Quando as proteínas são alvos de EROs, o resultado dessa interação é a formação de grupos carbonilas e o decréscimo de grupos tiólicos de proteínas (componente sulfidrila) e a oxidação do tripeptídio glutationa (GSH) à glutationa dissulfeto (GSSG), indicando um estado de estresse oxidativo apresentando alterações nas propriedades das proteínas da carne (MARTINAUD et al., 1997; FAGAN; SLECZKA; SOHAR, 1999; XIONG, 2000a).

A maioria dos estudos sobre oxidação em carne e demais alimentos têm procurado avaliar os efeitos da oxidação lipídica (KANNER, 1994; MONAHAN, 2003). No entanto, as proteínas (principais constituintes da carne, além da água) também são suscetíveis à modificações oxidativas (DAVIES; DEAN, 2003).

A oxidação protéica sofre processos similares àqueles da oxidação lipídica, envolvendo três fases: iniciação, propagação e terminação. Estes processos estão normalmente ligados a uma diminuição na funcionalidade da proteína do músculo, levando às perdas crescentes de água, géis de proteína mais fracos ou emulsões

menos estáveis (XIONG, 2000a). Além disso, essas modificações podem afetar negativamente a qualidade sensorial da carne com relação à cor, textura, suculência e maciez (ROWE et al., 2004a,b; LUND et al., 2007a), alterando as propriedades das proteínas da carne fresca e influenciando na qualidade de produtos cárneos (XIONG, 2000a).

Segundo Starke-Reed e Oliver (1989) enzimas proteolíticas podem ser inativadas pela oxidação. Em um estudo prévio, a oxidação protéica e a atividade proteolítica no amaciamento pela enzima calpaína foi investigado em bifes de carne bovina após irradiação e subseqüente maturação por 14 dias. O tratamento oxidativo mostrou um aumento da oxidação nas proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares, decréscimo da maciez da carne e diminuição da atividade da calpaína, indicando uma conexão entre maciez, oxidação protéica e proteólise em carne (ROWE et al., 2004a).

Poucos trabalhos têm investigado a correlação entre oxidação lipídica e protéica durante o armazenamento sem adição de pró-oxidantes (HAAK et al., 2006; VENTANAS et al., 2006). A alta concentração de O_2 na conformação de misturas gasosas para embalagens de carne bovina sob AM promove mudanças oxidativas, que resultam em carnes mais duras (ZAKRYS et al, 2008; GROBBEL et al, 2008; CLAUSEN et al, 2009; KIM et al, 2010).

Evidências sugerem que as condições oxidativas inibem a proteólise pela μ-calpaína, porém pode não inibir completamente a autólise (MADDOCK et al., 2006). No entanto, Lund et al. (2007a) registraram que o armazenamento refrigerado de bifes bovinos porcionados e estocados em AM com 80%O_2/20%CO_2 aumentou a oxidação do produto, sendo que a oxidação lipídica foi maior e mais acelerada que a oxidação protéica.

2.5.2.1 Reação de oxidação protéica

O mecanismo da oxidação protéica é descrito como uma reação em cadeia de radicais livres semelhante à oxidação lipídica, no entanto, uma maior complexidade das vias e uma maior variedade de produtos de oxidação foram relatados na oxidação de proteínas (LUND et al., 2011).

A oxidação de proteínas e aminoácidos é afetada por fatores ambientais como pH, temperatura, atividade de água e presença de catalisadores ou inibidores, além da estrutura de cada proteína. Os aminoácidos mais suscetíveis à oxidação são os grupos amino e fenólicos. Devido à sua estrutura, os aminoácidos triptofano, histidina, prolina, lisina, cisteína, metionina e tirosina são propensos à oxidação, onde o átomo de hidrogênio é captado a partir de grupos contendo OH-, S, ou N- (BERLETT; STADTMAN, 1997; STADTMAN, 2004). Decorrente da oxidação, a metionina é transformada em sulfona metionina, o triptofano em kynurenina e a tirosina em ditirosina (STADTMAN, 2004). Clivagem oxidativa da cadeia principal peptídica e da oxidação das cadeias laterais de lisina, arginina, prolina e treonina tem sido mostradas por produzir derivados de carbonilas (BERLETT; STADTMAN, 1997; FILGUERAS, 2010).

Produtos primários (hidroperóxidos) e secundários (aldeídos e cetonas) da oxidação lipídica podem reagir com proteínas e causar oxidação protéica. Oxidação de proteínas ocorre através de reações de radicais livres na qual os radicais peroxila (ROO•) formados durante a oxidação lipídica podem captar átomos de hidrogênio de moléculas protéicas (PH) (Reação 1). Conseqüentemente, radicais de proteínas são formados (P•) e podem formar uma rede de proteínas (PP), devido à ligações cruzadas (Reação 2):

Reação 1: ROO• + PH → P• + ROOH

Reação 2: P• + P• → P-P (rede de proteínas)

Além disso, o processo de oxidação protéica pode ocorrer devido à formação de complexo não-covalente por atrações eletrostáticas e/ou hidrofóbicas entre hidroperóxido lipídico (ROOH) ou produtos secundários da oxidação lipídica e nitrogênio ou enxofre de resíduos reativos de aminoácidos da proteína (PH) (Reação 3) (BERLETT; STADTMAN, 1997).

Reação 3: ROOH + PH → [ROOH---HP] → RO• + P• + H2O

Sabe-se, no entanto, que a reação de radicais com proteínas e peptídeos na presença de oxigênio dá origem a alterações na cadeia principal e lateral dos aminoácidos. Estas alterações oxidativas incluem a clivagem de ligações peptídicas, modificação de cadeias laterias de aminoácidos e formação de ligações cruzadas de proteínas (LUND et al., 2011) (Figura 3).

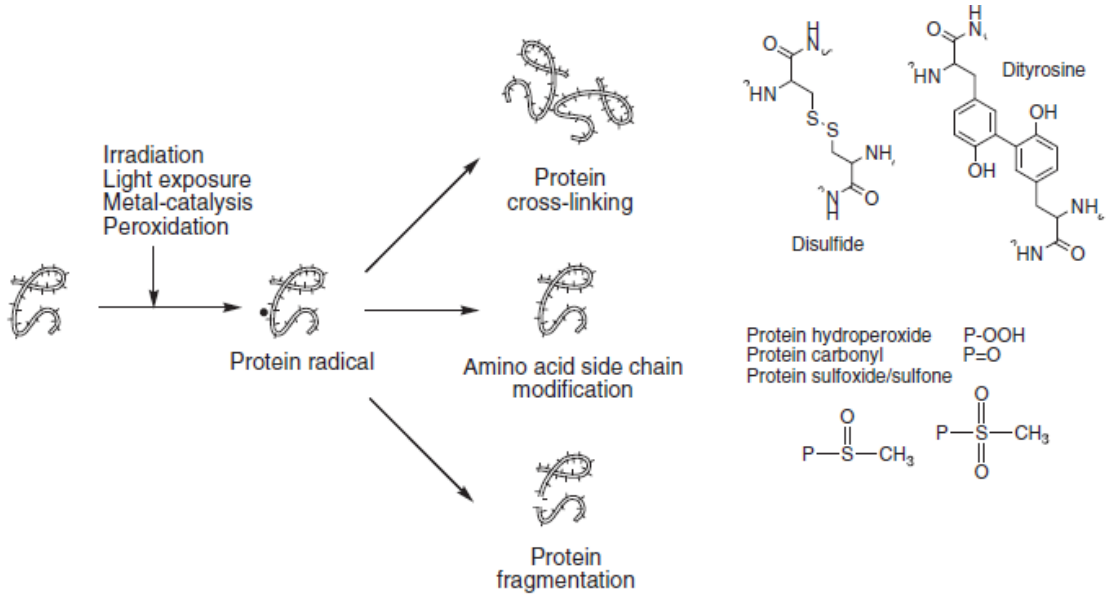

Figura 3 - Principais conseqüências da oxidação de proteínas
Fonte - LUND et al., 2011

As principais modificações em aminoácidos são a formação de grupos carbonilas de proteínas e hidroperóxidos, enquanto que ligações cruzadas têm sido descritas como a formação de dissulfeto e dityrosine através da perda de cisteína e resíduos de tirosina (ESTÉVEZ; OLLILAINEN; HEINONEN, 2009).

2.5.2.2 Quantificação da oxidação protéica

A detecção e quantificação do teor de compostos carbonílicos pela utilização do reagente DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazina) tem sido amplamente empregada como uma medida geral de oxidação de proteínas em carnes e produtos cárneos (ROWE et al., 2004a; LUND et al., 2007ab; ESTÉVEZ; MORCUENDE; VENTANAS, 2008), porém, a

mensuração de carbonilas é limitado a apenas um grupo de aminoácidos e não é um método representativo de todos os fenômenos da oxidação.

Os grupos carbonílicos de proteínas podem se formar através de vias não-oxidativas, através de reações com proteínas e aldeídos ou açúcares redutores causando uma superestimação do nível de oxidação da amostra (XIONG, 2000). Em contrapartida, há grupos carbonílicos que não se formam durante a oxidação de todas as cadeias laterais de aminoácidos (DAVIES et al., 1999), o que pode causar uma subestimação do estado oxidativo da amostra analisada.

Devido às imperfeições da metodologia carbonílica, a mensuração de grupos tióis livres é uma ferramenta útil na estimativa da oxidação de proteínas (STADTMAN, 1990), sendo a mensuração da diminuição do conteúdo de tióis de proteínas um índice adequado para avaliar o prejuizo da oxidação. A cisteína é um aminoácido chave em inúmeras enzimas, portanto, seu estado de oxidação é de grande importância sobre a atividade biológica. Além disso, a oxidação da cisteína dá lugar a pontes de dissulfeto que levam à agregação de proteínas. Durante a oxidação da carne a cisteína é degradada a dissulfeto de cisteína e ácido sulfênico, enquanto a metionina é facilmente oxidada a metionina sulfoxida (STADTMAN; LEVINE, 2003). Portanto, a perda de grupos SH livres em proteínas musculares é comumente utilizado como indicador da oxidação de proteínas. Este método tem sido usado para avaliar a oxidação de proteínas miofibrilares de carne de peru (MERCIER et al, 2001), frango (OOIZUMI; XIONG, 2004), bovina (MORZEL et al, 2006) e suína (LIU; XIONG; CHEN, 2009).

O conteúdo total de grupos tióis em carnes parece não ser afetado pela maturação *post-mortem* (HOFMANN; REINER, 1978), sugerindo que o conteúdo de grupos tióis podem ser utilizados como marcadores do processo de oxidação. A determinação da perda de grupos tióis em proteínas de carnes e seus derivados é baseada no reagente de Ellman (ESTÉVEZ; MORCUENDE; VENTANAS, 2008) ou 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoato - DTNB) (ELLMAN, 1959), que rapidamente forma ligação dissulfeto com grupos tióis livres, liberando o íon tiolato (TNB diânion) para formar um composto colorido (Figura 4).

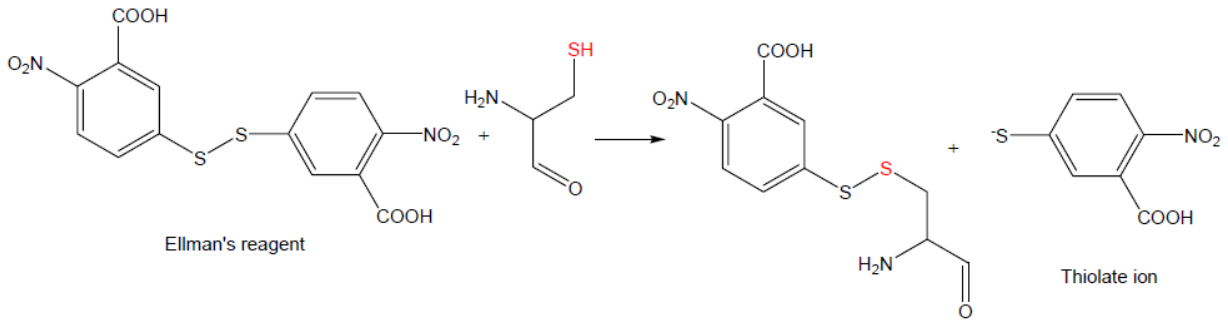

Figura 4 – Reação entre 5,5'-ditiobis(2-ácido nitrobenzóico) e grupos tióis de proteínas para formar tiolato
Fonte - LUND, 2011

2.6 Estrutura muscular e amaciamento da carne

Em torno de 30 a 40 % do peso vivo do animal, incluindo o homem, está representado pelo músculo esquelético (PEARSON; YOUNG, 1989). O sistema muscular esquelético constitui a maior parte da musculatura do corpo, formando o que comumente se denomina de carne. A composição da carne consiste de água (75%), proteínas (20%), lipídios (2,5 a 5%), carboidratos (aproximadamente 1%), vitaminas e minerais (aproximadamente 1%) (OFFER; KNIGHT, 1988).

O músculo esquelético é composto de feixes de fibras musculares (células musculares) e uma associação de tecido conjuntivo (epimísio, perimísio e endomísio). O músculo é cercado pelo epimísio e os feixes de fibras musculares pelo perimísio. As fibras musculares ou células musculares consistem em feixes de miofibrilas rodeadas por uma membrana plasmática (sarcolema) e do endomísio (Figura 5). A célula muscular é considerada uma das células mais altamente organizada no organismo animal (LONERGAN; LONERGAN, 2008).

No sarcoplasma, as proteínas miofibrilares que compõe as miofibrilas, constituem cerca de 50 a 55% das proteínas musculares. Outros 30 a 35% são compostos de proteínas sarcoplasmáticas (como enzimas e mioglobina) e os 10 a 15% restantes são compostos pelas proteínas do estroma (extracelulares, como colágeno e elastina) (LAWRIE; LEDWARD, 2006). As miofibrilas contráteis são constituídas por filamentos compostos por dois tipos principais de proteínas: actina e miosina, que formam um padrão definido de estrias ou faixas transversais alternadas claras e escuras. A proteína

actina é uma molécula globular (actina-G) que se agrega à outras moléculas, formando um cordão em dupla hélice (actina-F), denominado filamento fino (LAWRIE; LEDWARD, 2006). A miosina é uma proteína contrátil constituída de cabeça e cauda. A cauda da miosina forma a espinha dorsal do filamento grosso e a região da cabeça globular se estende desde o filamento grosso e interage com a actina no filamento fino (LONERGAN; LONERGAN, 2008).

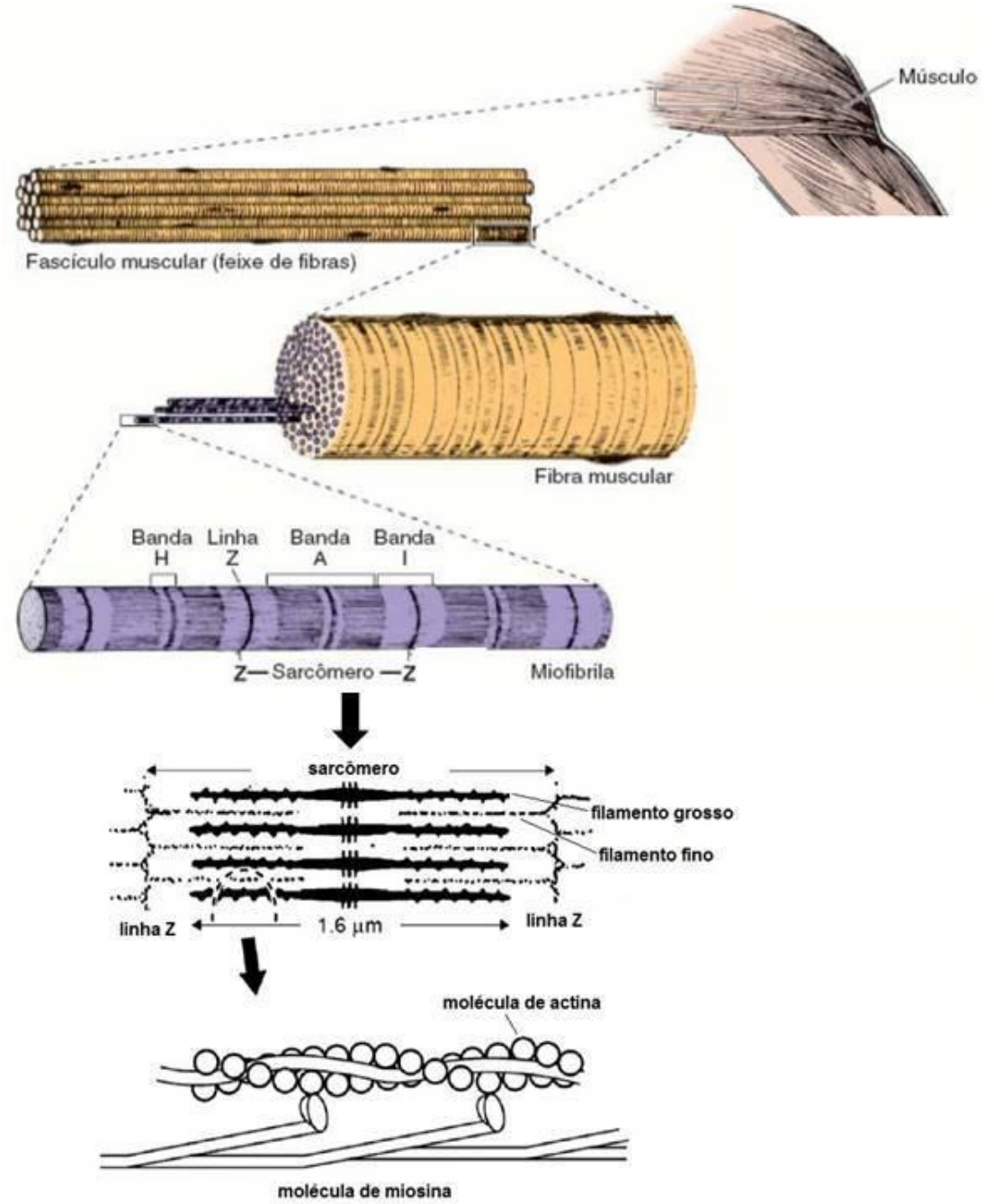

Figura 5 – Estrutura do músculo estriado esquelético
Fonte - DAVIES; WERNER KLINTH, 2004; SANTOS, 2007

As miofibrilas são constituídas por unidades que se repetem ao longo de seu comprimento, denominadas sarcômeros. A distribuição dos filamentos de actina (filamentos finos) e miosina (filamentos grossos) variam ao longo do sarcômero. As faixas mais extremas e mais claras do sarcômero, chamadas banda I, contêm apenas filamentos de actina. Dentro da banda I existe uma linha que se cora mais intensamente, denominada linha Z, que corresponde a várias uniões entre dois filamentos de actina, com grande presença de alfa-actinina. A faixa central, mais escura, é chamada banda A, cujas extremidades são formadas por filamentos de actina e miosina sobrepostos. Dentro da banda A existe uma região mediana mais clara, a banda H, que contém apenas miosina. Um sarcômero compreende o segmento entre duas linhas Z consecutivas, sendo este a unidade contrátil da fibra muscular, pois é a menor porção da fibra muscular com capacidade de contração e distensão (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; SANTOS, 2007).

2.6.1 Transformação do músculo em carne

A transformação do músculo em carne implica em mecanismos complexos e interdependentes, que inicia após a exsanguinação, declínio da temperatura da carcaça e diminuição da energia da célula, influenciando na maciez da carne final.

No músculo vivo, o oxigênio é transportado para todos os músculos pelo sangue. Quando o suprimento de oxigênio é esgotado, o metabolismo energético das células é alterado da via aeróbia para anaeróbia de produção de adenosina trifosfato (ATP) (THOMPSON et al., 2006).

A menor geração de ATP através da via anaeróbia, resulta na produção final de ácido lático, que se acumula no músculo, reduzindo o pH. A taxa e a extensão da queda do pH é um fator importante para a qualidade da carne. Dependendo do tipo de músculo e concentração de glicogênio, o pH diminui de 7,0 no músculo vivo para pH entre 5,4 e 6,3 (média em torno de 5,5 e 5,6) na carne (HONIKEL, 2004). Quando o nível de ATP é baixo, impossiblitando a manutenção do estado de relaxamento dos músculos, a carcaça entra em *rigor mortis*, aumentando gradualmente a rigidez muscular (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005).

Este aumento da rigidez muscular é geralmente significativo quando o pH diminuiu para cerca de 6 (THOMPSON et al., 2006). No *rigor mortis,* a sobreposição da actina e miosina torna-se irreversível, formando pontes cruzadas. Estas ligações são a origem da rigidez que se desenvolve no músculo *post-mortem*. Com o estabelecimento do *rigor mortis*, cerca de 24 a 48 horas após o abate, ocorre um aumento na maciez como resultado da degradação enzimática do tecido muscular, causada pelas enzimas proteolíticas, como as calpaínas, catepsinas, proteasomas e caspases (SAVELL; MUELLER; BAIRD, 2005). Após o abate, essas enzimas são ativadas pelo aumento da concentração de cálcio muscular, melhorando a maciez. Porém a quantidade de cálcio é relativamente baixa, limitando a atividade dessas proteases (GOLL et al. 1995).

2.6.2 Maciez da carne

Em relação aos atributos de qualidade sensorial da carne, a maciez é considerada a característica mais importante, afetando diretamente a satisfação do consumidor ao comer (THOMPSON, 2002).

O processo de amaciamento da carne é afetado por inúmeros fatores intrínsecos (espécie, raça, sexo, idade e tipo de fibra) e extrínsecos (dieta, manejo pré-abate, transporte, estresse, estimulação elétrica, temperatura de estocagem, processamento, embalagem, período de armazenamento) (PEARCE et al., 2011; OUALI; TALMANT, 1990). O método de cocção e a temperatura de cozimento também podem afetar consideravelmente a maciez e a satisfação do consumidor ao comer (YANCEY et al., 2011).

A maciez da carne é determinada pela quantidade e solubilidade do tecido conjuntivo, comprimento do sarcômero, taxa de proteólise durante a maturação e metabolismo *post-mortem* (WARNER et al, 2010; KOOHMARAIE; GEESINK, 2006; KOOHMARAIE et al., 2002). Em geral, o tecido conjuntivo é estável no período *post-mortem* (PURSLOW; TROTTER, 1994). Embora exista relato de correlação entre a quantidade de colágeno total e a dureza da carne (TORRESCANO et al., 2003), a concentração de colágeno no músculo não é modificado desde o nascimento até o abate do animal (BAILEY; LIGHT, 1989). Contrariamente, Nishimura et al. (1996)

indicaram que o tecido conjuntivo mostra sinais de mudanças estruturais após longos períodos de estocagem, porém, estas mudanças estão relacionadas à modificação do colágeno insolúvel em solúvel.

Durante o amaciamento *post-mortem* há grandes mudanças na estrutura da carne, devido à fragmentação de proteínas miofibrilares e citoesqueléticas (HOPKINS; GEESINK, 2009). As proteínas degradadas são as intermiofibrilares (principalmente desmina e vinculina) e intramiofibrilares (principalmente titina e nebulina) ou dos costâmeros (principalmente distrofina) (HATTORI et al., 1991). A função de algumas dessas proteínas é manter a integridade estrutural das miofibrilas (PURSLOW et al, 2001), e a degradação proteolítica destas, causa um enfraquecimento das miofibrilas e, portanto, amaciamento (KOOHMARAIE, 1996; TAYLOR et al., 1995).

O sistema das calpaínas é considerado por vários autores o principal mecanismo responsável pela proteólise miofibrilar que conduz ao amaciamento da carne (HERRERA-MENDEZ et al., 2006; KOOHMARAIE, 1996, 1994; OUALI; TALMANT, 1990). Dransfield (1993) demonstrou que 65% da variação na maciez da carne pode ser explicada pela variação na atividade da µ-calpaína. O sistema enzimático das calpaínas é formado por duas calpaínas (µ-calpaína - ativada por concentração micromolar de cálcio e m-calpaína - ativada por concentração milimolar de cálcio) e inibidas pela calpastatina (KOOHMARAIE, 1992). As proteínas citoesqueléticas, como a desmina e integrinas, desempenham papel importante na manutenção da integridade da fibra muscular, sendo ambas conhecidas como substratos da µ-calpaína (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005; LAWSON, 2004).

No entanto, outras pesquisas têm desafiado o papel exclusivo das calpaínas no amaciamento da carne (HERRERA-MENDEZ et al, 2006; OUALI et al., 2006; HOPKINS; TAYLOR, 2004), sugerindo que outros sistemas enzimáticos poderiam contribuir para a proteólise da carne, como as catepsinas e o processo multienzimático, incluindo proteasomas e caspases (OUALI et al., 2006).

As catepsinas são as proteases ácidas presentes nos lisossomos, tendo como substratos a actina, a miosina e a linha Z (KOOHMARAIE, 1994). Uma importante característica dessas catepsinas é que elas atuam até em pH mais baixo (pH<6,0) que as calpaínas, e degradam não só proteínas miofibrilares (como as calpaínas o fazem)

como também exercem ação sobre as proteínas do tecido conjuntivo (colágeno), o que pode indicar um sinergismo com o sistema enzimático das calpaínas. Nas carnes maturadas a quantidade de colágeno solubilizado é maior que em carnes não maturadas, pela ação proteolítica das catepsinas, liberadas no meio extracelular e capazes de clivar o colágeno insolúvel em fragmentos solúveis (MONSÓN et al., 2004).

As caspases poderiam contribuir para a proteólise *post-mortem*, dada a inatividade das calpaínas em pH menor que 5,8 (OUALI et al., 2006). Caspases são peptidases de cisteína neutras, associadas à apoptose celular. Sua atividade é induzida imediatamente após o abate do animal, e seu processo resulta em uma morte programada da célula muscular (SENTANDREU et al., 2002). No entanto, evidências claras da atividade das caspases no amaciamento da carne ainda não foram esclarecidas (HOPKINS; GEESINK, 2009).

Como previamente referenciado, o pH é outro fator importante que influencia na maciez da carne, utilizado como um indicador potencial de amaciamento (PULFORD et al., 2009). Estudos prévios indicam uma relação linear entre esses dois parâmetros (PÉREZ; ESCALONA; GUERRERO, 1998), porém, alguns autores encontraram uma relação curvilinear com máximo de dureza da carne entre 5,8 - 6,2 (WATANABE; DALY; DEVINE, 1996; JELENIKOVA; PIPEK; STARUCH, 2008). De acordo com Yu e Lee (1986), a relação entre pH e maciez deve-se à maior atividade de enzimas proteolíticas em pH próximo a neutralidade.

Um dos métodos mais empregados, e que tem alta correlação com a satisfação de provadores e consumidores, denomina-se força de cisalhamento (FC). Este método associado à classificação de carcaças apresenta alto potencial para predizer a maciez do músculo *Longissimus dorsi* (KOOHMARAIE et al., 1998), todavia sem apresentar correlação significativa com a maciez de outros cortes (SHACKELFORD et al., 1995). Por sua vez, o índice de fragmentação miofibrilar (MFI) é um teste objetivo que avalia biofisicamente as alterações das estruturas musculares durante o processo de proteólise *post-mortem*. Culler et al. (1978) propuseram que o índice de fragmentação miofibrilar (MFI) explica mais de 50% da variação na maciez da carne, apresentando contribuições importantes na maciez do que a solubilidade de colágeno ou o comprimento do sarcômero. Aos três dias *post-mortem* o MFI é considerado um dos

indicadores de maior correlação com FC após maturação da carne bovina por 14 dias (WHIPPLE et. al., 1990).

O efeito do tratamento térmico sobre a maciez da carne é um reflexo da ação de temperaturas elevadas sobre o colágeno e proteínas miofibrilares. Obus et al. (2003) e Lawrence et al. (2001), relatam mudanças na maciez da carne após o cozimento, provavelmente resultantes da solubilização do colágeno e desnaturação de proteínas miofibrilares, sendo essas mudanças dependentes do tempo e temperatura que as carnes são cozidas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Preparação da matéria prima

Para este estudo foram utilizados músculos bovinos *Longissimus dorsi* (contra-filé) oriundos de animais machos inteiros e fêmeas de descarte *Bos indicus* (com grande participação da raça Nelore), criados a pasto, com dois a quatro dentes incisivos (30 a 36 meses) e gordura de cobertura entre 1 e 3 mm de espessura. Após o abate convencional no frigorífico do Grupo JBS – Friboi Ltda, localizado na cidade de Iturama/MG, as carcaças foram identificadas e armazenadas em câmaras frias a 10 °C por 24 horas.

Os músculos foram removidos do lado esquerdo de meias carcaças de machos inteiros (n = 17) e fêmeas de descarte (n = 17). No frigorífico, os músculos *Longissimus dorsi* foram separados em duas diferentes porções: *Longissimus thoracis* (LT – entre a 6ª e 13ª vértebra torácica) e *Longissimus lumborum* (LL – entre a 1ª e 6ª vértebra lombar) para ambos os sexos (Figura 6).

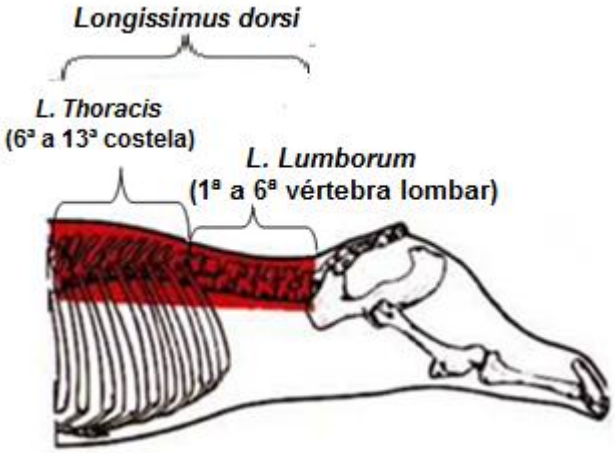

Figura 6 – Ilustração das diferentes porções do músculo *Longissimus dorsi*
Fonte - CARDOSO, 2005

Os músculos foram transportados para a planta piloto do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ/USP, Piracicaba – São Paulo e mantidos refrigerados em câmara fria a 2 ºC (± 1 ºC). O porcionamento em corte transversal para obtenção dos bifes ocorreu 48 horas pós abate em ambiente climatizado a 15 ºC.

Foram obtidos bifes de 1,5 e 2,5 cm de espessura (aproximadamente 250 g e 400 g, respectivamente).

3.2 Sistemas de embalagem

Os bifes foram acondicionadas em bandejas termoformadas laminadas do tipo poliéster/polietileno (236,5 x 164,5 x 45 mm, PET transparente/PE) (Bemis Company® - Dixie Toga) para a atmosfera modificada e em sacos termoencolhíveis (Cryovac®, Sealed Air) para o vácuo. Nas bandejas de atmosfera modificada, os bifes foram colocados sobre uma almofada absorvedora de líquido, com capacidade nominal de absorção de 100 mL (Dri-loc®, Cryovac®, Sealed Air).

Para a embalagem em atmosfera modificada foi utilizada máquina termosseladora (modelo T200, marca Multivac) equipada com câmara de vácuo, para o embalamento e injeção de gases, cuja composição foi confeccionada e certificada pela empresa Linde Gases Group Ltda. O controle automático do ciclo de vácuo/injeção/fechamento do filme tampa foi programado para operar nas seguintes condições: pressão de evacuação de 8 mbar; pressão de injeção de atmosfera de 850 mbar; pressão de entrada de atmosfera modificada de 1,5 kgf/cm^2; tempo de homogeneização de 4 segundos e selagem a 160 °C por 2,5 segundos. Foram utilizados sachês absorvedores de O_2 auto-ativado (Soft Post Brasil®, Ltda) nas atmosferas anóxicas, com capacidade de absorção de 300 cm^3. A selagem/fechamento das bandejas foi realizado com filme tampa anti-fogging laminado com camada selante à base de polietileno (PEBDL), camada externa à base de poliamida (PA) e camada barreira de etileno vinil álcool (EVOH) (Bemis Company® - Dixie Toga) com espessura nominal total de 102 μm, permeabilidade ao O_2 de 2,5 cm^3/m^2/24 h a 23 °C, 0% de umidade relativa (UR) e permeabilidade ao vapor de água de 7 g/m^2/24 h a 38 ºC, 90%UR.

Em relação à embalagem dos bifes a vácuo foi utilizada uma máquina seladora (300B, Selovac). A embalagem plástica utilizada para o acondicionamento a vácuo se compôs de sacos *barrier bag* com estrutura EVA (etileno-acetato de vinila)

multicamadas termo encolhível, com permeabilidade máxima ao O_2 de 25 cm³/m².dia e permeabilidade máxima ao vapor de água de 10 g água/m².dia (CRYOVAC, 2010).

Ao todo foram processadas 480 unidades experimentais, contendo dois bifes em cada bandeja e/ou sacos termoencolhíveis, distribuídas nos diferentes sistemas de embalagem conforme descrição a seguir:

Tabela 1 – Sistemas de embalagem e concentrações gasosas

Embalagem	Concentração de gases (%)				
	N_2	O_2	CO_2	CO	Vácuo
Vácuo					x
75%O_2		75,0	25,0		
0,2%CO	39,8		60,0	0,2	
0,4%CO	59,6		40,0	0,4	

Os bifes embalados nos diferentes sistemas foram estocados a 2 ºC (± 1 ºC) em câmara fria, por 28 dias de armazenamento. Nos bifes de 1,5 cm foram realizadas análises de cor, pH, oxidação lipídica e protéica, índice de fragmentação miofibrilar (MFI) e colágeno total. Por sua parte, nos bifes de 2,5 cm foram realizadas análises de cor, pH, perda de peso por cocção e força de cisalhamento. Os períodos avaliados corresponderam aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem.

Figura 7 – Estocagem das amostras em câmara fria a 2 °C (± 1 ºC)

3.3 Amostragem

A amostragem da carne para as diferentes análises é ilustrada na Figura 8. Após maturação, as amostras para as análises correspondentes a oxidação protéica, MFI e colágeno total foram congeladas e armazenadas a -80 ºC, enquanto as amostras para a realização das análises de cor, pH, oxidação lipídica, perda de peso por cocção (PPC) e força de cisalhamento (FC) foram feitas após abertura das embalagens.

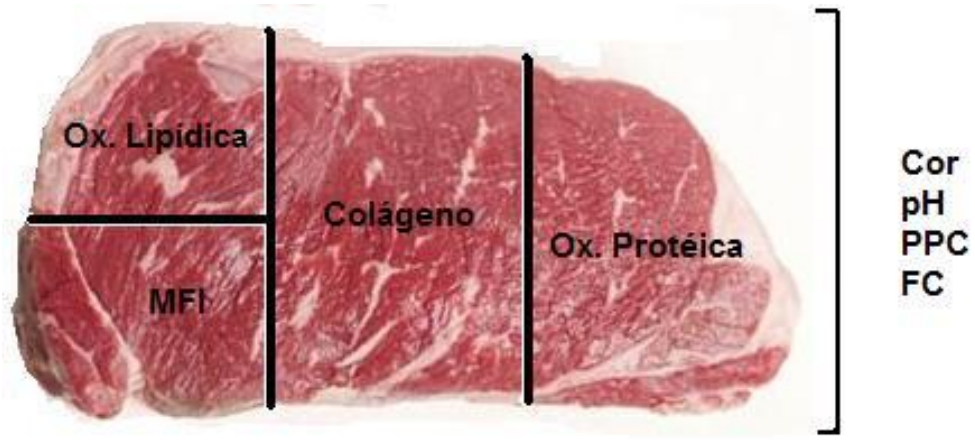

Figura 8 – Amostragem para as diferentes análises realizadas nos bifes

3.4 Composição gasosa

Os teores de gás carbônico (CO_2) e oxigênio (O_2) no espaço-livre das embalagens em atmosfera modificada (AM) foram avaliados após a selagem das bandejas (dia 0) e nos períodos de estocagem avaliados, anteriormente à abertura das mesmas. Nesta análise foram excluídas as embalagens a vácuo. As medidas foram realizadas utilizando-se um analisador de gases portátil (CheckPoint®, PBI Dansensor A/S, Ringsted, Denmark). A mistura gasosa do espaço-livre foi coletada com uma seringa hermética, através de um septo de silicone colado na superfície do filme-tampa (Figura 9). Os valores foram expressos em porcentagem (%) de CO_2 e O_2.

Figura 9 – Avaliação da composição gasosa nas bandejas sob atmosfera modificada

3.5 Cor instrumental

A cor instrumental foi medida sobre a superfície da carne após 10 a 15 minutos da abertura das bandejas ou dos sacos termoencolhíveis, utilizando um espectrofotômetro portátil modelo MiniScan®XE Plus (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA) integrado a um sistema Universal Software V4.10 e calibrado para operar nas seguintes especificações: geometria ótica 45/0, 25 mm de diâmetro de abertura, ângulo de observação 10° e iluminante D65. As coordenadas CIE L*a*b*, os valores de croma (C*) = $[(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}]$ e ângulo-hue (h*) = $tg^{-1}(b^*/a^*)$ das amostras foram obtidos pela movimentação do aparelho, em seis posições adjacentes, de tal forma que toda a superfície disponível dos bifes fosse amostrada, porém evitando-se as áreas de gordura.

3.6 pH

A avaliação do pH no interior de cada bife foi realizada utilizando-se eletrodo de penetração de corpo de vidro (Digimed) acoplado a potenciômetro de punção (modelo pH 300 - série 35618, Oakton), com compensação de temperatura, calibrado com solução tampão de pH 4,0 e 7,0.

3.7 Oxidação lipídica

A determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foi realizada para descrever a extensão da oxidação lipídica nas amostras de carne bovina com ácido tricloroacético (TCA) e 2-ácido tiobarbitúrico (TBA), segundo Vyncke (1970; 1975) e modificada por Sørensen e Jørgensen (1996). As amostras de carne foram pesadas (5,0 g) e homogeneizadas com 15 mL de tampão TCA em equipamento Ultra-Turrax (modelo T18, marca IKA) a 8.000 rpm por 45 segundos. Os homogenatos foram filtrados com papel de filtro e uma alíquota de 5,0 mL foi diluída em 5,0 mL de tampão TBA. A solução foi incubada em banho-maria a 100 °C por 40 minutos. Solução de 5,0 mL de TCA e 5,0 mL de TBA foi utilizada como branco. Os valores de TBARS foram determinados por leituras de absorbância em espectrofotômetro (modelo UV-mini 1240, marca Shimadzu) a 532 nm e 600 nm. Os resultados foram expressos em mg malonaldeído/kg de amostra.

3.8 Oxidação protéica

A determinação de tióis livres foi utilizada para descrever a extensão da oxidação protéica nas amostras de carne bovina com 5,5-ditiobis (2- ácido nitrobenzóico) (DTNB), segundo Ellman (1959) com modificações (WINTERBOURN, 1990). As amostras de carne foram descongeladas, pesadas (2,0 g) e homogeneizadas em equipamento Ultra-Turrax (modelo T18, marca IKA) com 50 mL de tampão 5% de SDS a 10.000 rpm. Os homogenatos foram incubados em banho-maria a 80 °C por 30 minutos e filtrados em papel de filtro Whatman n° 1. O filtrado foi diluído 30 vezes com tampão. A concentração de proteína foi determinada por leitura de absorbância em espectrofotômetro (modelo UV-mini 1240, marca Shimadzu) a 280 nm. Uma curva padrão foi elaborada usando uma escala linear de concentrações conhecidas de BSA (albumina de soro bovina). A determinação de tióis livres foi realizada diluindo-se o filtrado oito vezes com tampão. Duas soluções foram preparadas correspondentes ao branco DTNB e “branco carne”. Os valores de tióis livres foram obtidos após leitura de absorbância a 420 nm e expressados em nmoles de tióis livres/mg de proteína.

3.9 Índice de fragmentação miofibrilar (MFI)

A obtenção do homogenato e da fração miofibrilar para a determinação de MFI, foi realizada segundo metodologia descrita por Culler et al. (1978), com ligeiras modificações.

Amostras de carne foram descongeladas, pesadas (2,0 g) e homogeneizadas em 30 mL de tampão de Índice de Fragmentação Miofibrilar (TMFI) (100 mM KCl, 20 mM de fosfato de potássio pH 7,0; 1,0 mM EDTA; 1,0 mM $MgCl_2$ e 1,0 mM NaN_3, pH 7,0) a 4 °C, em homogeneizador Ultra-Turrax (modelo T18, marca IKA) a 18.000 rpm, totalizando três homogeneizações de 30 segundos cada. Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 1000 g por 15 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspenso com o mesmo volume inicial de TMFI, seguindo-se duas centrifugações sucessivas, sendo a última ressuspensão feita com metade do volume inicial de TMFI (15 mL). O material foi filtrado em peneira fina e armazenado a 4 °C. A quantificação de proteínas miofibrilares totais foi feita pelo método de Biureto (GORNALL; BARDAWILL; DAVID, 1949). Para a determinação do MFI as amostras foram diluídas em TMFI a volume final de 8,0 mL e concentração de proteína de 0,5 mg/mL. Os valores de MFI foram obtidos após leitura de absorbância da suspensão miofibrilar, medida a 540 nm e multiplicada por um fator de 200.

3.10 Colágeno total

O teor de hidroxiprolina foi quantitativamente determinado como medida da proteína colágeno da carne. Após o descongelamento, as amostras *in natura* foram homogeneizadas, pesadas (4,0 g) e adicionados 15 mL de ácido sulfúrico, para digestão em estufa a 105 ºC por 16 h. A solução foi filtrada em papel de filtro simples e diluída em água até volume de 250 mL. Uma alíquota de 5,0 mL foi rediluída até volume final de 50 mL. Uma nova alíquota de 4,0 mL foi diluída em 2,0 mL de reagente de oxidação (contendo cloramina T) e 2,0 mL de reagente de cor (contendo 4-dimetilamino-benzaldeído). A absorbância do complexo vermelho púrpura formado pela reação de oxidação foi medida a 558 nm no espectrofotômetro (UV-mini 1240,

Shimadzu). Os resultados para hidroxiprolina foram multiplicados por um fator de 8 e a quantidade de colágeno total foi expressa em g colágeno total/100 g de amostra em base seca, de acordo com Association of Official Agricultural Chemists - AOAC (1995).

3.11 Perda de peso por cocção (PPC)

Os bifes *in natura* foram pesados em balança semi-analítica (BG2000, Gehaka) e assados em grelha elétrica (Edanca), com aquecimento na parte inferior e superior das chapas à temperatura média de 160 °C. Quando os bifes atingiam temperatura interna geométrica de 50 °C eram virados e a cocção era concluída quando a temperatura atingia 71 °C, conforme descrito por Corte et al. (1979) e recomendações do American Meat Science Association (AMSA,1995). Os bifes foram pesados, após esfriar a temperatura ambiente, e os valores de PPC foram expressados em porcetagem (%) conforme equação:

$$PPC\ (\%) = \frac{(peso\ inicial\ -\ peso\ final)}{peso\ inicial} \times 100 \qquad (1)$$

3.12 Força de cisalhamento (FC)

Os bifes utilizados na análise de PPC foram mantidos sob refrigeração por 24 horas a 4 °C. Posteriormente, foram retirados de cada bife de 6 a 10 cilindros de 1,27 cm de diâmetro, usando vazador acoplado a uma furadeira elétrica. Mediu-se a força necessária para cortar transversalmente cada cilindro no texturômetro com lâmina Warner-Bratzler e velocidade de 5,0 mm/s. Os valores foram expressos em kgf.

3.13 Análise estatística

Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 4x5x2, para cada sexo, onde os fatores foram: sistema de embalagem, tempo de estocagem e porção de músculo. Os dados foram obtidos de três repetições por

tratamento. A análise de variância (ANOVA) foi usada para determinar diferenças significativas entre os tratamentos. Quando as diferenças foram detectadas, ao nível de 5%, foi realizado o teste de Tukey para comparação de médias entre os tratamentos. Correlações de Pearson foram realizadas entre as variáveis. As análises estatísticas foram realizadas usando o programa *Statistical Analysis System*©, (Versão 9.0, SAS Institute Inc, Cary, NC).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composição gasosa

As composições gasosas de cada embalagem de atmosfera modificada mudaram significativamente ($p < 0,05$) com o período de estocagem, indicando que o ambiente gasoso na atmosfera modificada não é estático. Este fenômeno pode ser resultado do crescimento microbiano, da permeabilidade do material da embalagem, e da respiração ou absorção do gás pela carne (ESMER et al., 2011; JEREMIAH, 2001; O'GRADY et al., 2000). Como observado na Tabela 2, a concentração de O_2 diminuiu e a concentração de CO_2 aumentou na embalagem com 75% de O_2 ao longo do período experimental para ambos os músculos. Pequenas variações na concentração de O_2 em embalagens sob atmosfera modificada foram encontradas por Sørheim; Nissen e Nesbakken (1999), ao utilizarem uma mistura gasosa de 70%O_2/30%CO_2, observando concentrações finais de 60 a 65% de O_2 após 21 dias de estocagem sob refrigeração. Por sua parte, Djenane et al. (2003) e Rosa (2009) não observaram reduções de O_2 em atmosferas contendo de 50 a 75%O_2, durante estocagem por 7 e 21 dias, em bifes bovinos e suínos, respectivamente.

As concentrações de O_2 observadas ao longo do período experimental podem favorecer a estabilidade da cor vermelha da carne fresca em atmosferas aeróbicas, onde é necessária uma concentração mínima do O_2 de 55% (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2000).

Nas embalagens de atmosfera modificada contendo CO (0,2%CO e 0,4%CO), a concentração residual de O_2 manteve-se abaixo do limite crítico de 0,5% (SØRHEIM et al., 1997), em decorrência do uso de sachês absorvedores deste gás, evitando desta forma, nos primeiros dias de estocagem, a rápida oxidação da deoximioglobina a metamioglobina (cor marrom), problema que em algumas vezes, afeta a aparência da carne sob atmosferas anóxicas sem a presença de CO (JEREMIAH, 2001; HUNT et al., 2004; BELCHER, 2006). Adicionalmente, a ausência de O_2 residual no interior das embalagens regula o crescimento de microrganismos aeróbios (SARANTÓPOULOS, 2001). Semelhantemente a este estudo, Sørheim et al. (1999) ao utilizarem

absorvedores de O_2 em embalagens anaeróbias contendo 0,4% CO, não detectaram O_2 residual em carne suína após 14 dias de estocagem.

Tabela 2 – Concentrações de O_2 e CO_2 nas embalagens de atmosfera modificada[1] durante estocagem de bifes obtidos dos músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de ambos os sexos a 2ºC por 28 dias

Embalagem	Tempo (dias)	*Longissimus thoracis*		*Longissimus lumborum*	
		O_2	CO_2	O_2	CO_2
75%O_2	0 dia	74,98^{a}	24,90^{b}	74,98^{a}	24,90^{b}
	7 dias	71,59^{b}	27,74^{ab}	72,77^{b}	26,71^{a}
	14 dias	70,99^{b}	28,06^{a}	71,87^{b}	27,21^{a}
	21 dias	69,64^{b}	29,39^{a}	72,37^{b}	26,81^{a}
	28 dias	69,59^{b}	29,76^{a}	72,45^{b}	26,98^{a}
0,2%CO	0 dia	0,00^{a}	61,73^{a}	0,00^{a}	61,73^{a}
	7 dias	0,00^{a}	49,04^{b}	0,19^{a}	50,13^{b}
	14 dias	0,00^{a}	48,19^{b}	0,03^{a}	48,37^{b}
	21 dias	0,02^{a}	47,03^{b}	0,00^{a}	49,05^{b}
	28 dias	0,00^{a}	46,49^{b}	0,00^{a}	48,14^{b}
0,4%CO	0 dia	0,00^{a}	41,20^{a}	0,00^{a}	41,20^{a}
	7 dias	0,00^{a}	31,18^{b}	0,00^{a}	32,54^{b}
	14 dias	0,00^{a}	32,25^{b}	0,00^{a}	31,55^{b}
	21 dias	0,00^{a}	31,71^{b}	0,00^{a}	31,16^{b}
	28 dias	0,00^{a}	31,32^{b}	0,00^{a}	30,62^{b}

[1] Embalagem: 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[a-b] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$) dentro de cada tipo de embalagem

Na embalagem de atmosfera modificada 75%O_2, foi observado um aumento de 8% na concentração de dióxido de carbono (CO_2). Esta alteração ao longo do período experimental, não foi significativa quando comparadas às concentrações injetadas inicialmente. O aumento da concentração de CO_2 nesta embalagem pode estar associado ao processo de respiração da carne e ao provável crescimento de bactérias estritamente aeróbias, como as *Pseudomonas,* devido à alta concentração de O_2. Como resultado do metabolismo destas bactérias, é observado um aumento no teor de CO_2 no espaço existente entre a carne e o filme tampa (*head space*) das embalagens (MORALES-CASTRO; OCHOA-MARTÍNEZ, 2010; SARANTÓPOULOS, 1994).

Por outro lado, nas atmosferas 0,2%CO e 0,4%CO, foi observado um decréscimo ($p < 0,05$) na concentração de CO_2 no interior das embalagens após 28 dias de estocagem em relação à concentração injetada (60% e 40% CO_2, respectivamente). A

diminuição de CO_2 observada nestas embalagens pode estar associada à solubilidade do CO_2 na carne e na gordura, pressão parcial de CO_2, temperatura de estocagem e/ou permeabilidade pelo material da embalagem (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2002; SØRHEIM et al., 1997; GILL et al., 1996, ZHAO; WELLS; McMILLIN, 1995). A perda de CO_2 observada nas atmosferas com CO foram de 22,8% e 24,7%, respectivamente, ao final dos 28 dias de estocagem em ambos os músculos e sexos. Similarmente, Venturini (2007), observou diminuição na concentração de CO_2 em embalagens com 60%CO_2/0,2%CO após 21 dias de armazenamento de bifes bovinos.

4.2 Cor instrumental

Os valores de L*, C* e h* dos bifes obtidos de *Longissimus thoracis* (LT) e *Longissimus lumborum* (LL) de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte, embalados no vácuo e nas atmosferas modificadas por um período de 28 dias, estão expressos nas Tabelas 3 a 8.

O tempo de estocagem inicial (dia 0) foi utilizado para representar a cor da carne fresca exposta ao oxigênio atmosférico, 48 horas *post mortem*, anteriormente ao processo de embalagem a vácuo ou em atmosfera modificada.

Em geral, os bifes obtidos dos músculos LT e LL de bovinos machos inteiros embalados na atmosfera com alta concentração de O_2 (75%O_2) e baixas concentrações de CO (0,2%CO e 0,4%CO) apresentaram aumento nos valores de luminosidade (L*) (Figura 10). No entanto, essas atmosferas não apresentaram diferença estatística entre si do 7º ao 28º dia de armazenamento.

Tabela 3 – Valores de L* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	39,0±4,7^{Aa}	31,9±3,1^{ABb}	33,0±3,8^{ABb}	31,5±4,1^{ABb}	31,6±3,2^{Bb}	33,4	39,9±1,6^{Aa}	33,6±2,4^{Bb}	34,2±2,5^{Bb}	33,7±1,6^{Bb}	34,4±2,9^{Bb}	35,1
75%O_2	39,8±3,8^{Ba}	44,4±2,6^{Aa}	44,3±0,8^{Aa}	44,8±2,0^{Aa}	44,0±0,9^{Aa}	43,5	38,9±0,0^{Bab}	44,1±2,0^{Aa}	44,5±1,3^{Aa}	44,5±2,0^{Aa}	44,2±3,0^{Aa}	43,2
0,2%CO	41,5±0,8^{Aa}	42,7±3,0^{Aa}	41,8±2,5^{Aa}	42,2±4,1^{Aa}	41,7±3,4^{Aa}	42,0	37,5±1,1^{Bbc}	43,3±3,6^{Aa}	43,9±2,7^{Aa}	45,4±3,3^{Aa}	44,7±2,4^{Aa}	43,0
0,4%CO	41,1±1,3^{Aa}	43,2±3,1^{Aa}	44,8±1,8^{Aa}	44,4±2,5^{Aa}	44,5±2,6^{Aa}	43,6	36,6±1,4^{Bc}	43,9±3,2^{Aa}	44,7±1,8^{Aa}	45,0±4,4^{Aa}	43,9±2,7^{Aa}	42,8
Média	40,3	40,5	41,0	40,7	40,4	40,6	38,2	41,2	41,8	42,1	41,8	41,0

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-B] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-c] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E: $p < 0,0001$; T: $p < 0,001$; E x T: $p < 0,0001$; T x M: $p < 0,05$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Tabela 4 – Valores de L* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	37,3±1,2^{Aa}	34,4±0,9^{Ab}	35,4±2,3^{Ab}	35,1±2,4^{Ab}	36,7±3,2^{Ab}	35,8	36,8±1,0^{Aa}	38,0±1,5^{Ab}	37,1±1,6^{Ab}	36,6±1,8^{Ab}	37,5±1,1^{Ab}	37,2
75%O_2	37,2±1,2^{Ba}	42,6±1,8^{Aa}	42,5±0,8^{Aa}	42,7±1,1^{Aa}	42,7±1,0^{Aa}	41,5	37,2±2,3^{Ba}	43,4±1,3^{Aa}	42,6±1,5^{Aa}	43,6±1,1^{Aa}	42,9±0,9^{Aa}	42,0
0,2%CO	36,7±0,9^{Ba}	42,1±1,3^{Aa}	41,8±1,3^{Aa}	43,2±1,4^{Aa}	42,5±1,0^{Aa}	41,3	36,8±2,0^{Ba}	42,4±1,3^{Aa}	42,6±1,8^{Aa}	43,2±1,3^{Aa}	42,6±0,8^{Aa}	41,5
0,4%CO	38,9±3,9^{Aa}	42,4±2,9^{Aa}	44,2±2,8^{Aa}	44,0±3,8^{Aa}	44,6±2,6^{Aa}	42,8	34,9±1,2^{Ba}	43,0±2,2^{Aa}	43,8±2,7^{Aa}	43,1±2,1^{Aa}	44,4±2,9^{Aa}	41,8
Média	37,5	40,4	41,0	41,2	41,6	40,3	36,4	41,7	41,5	41,6	41,8	40,6

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-B] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-b] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E; T: $p < 0,0001$; E x T: $p < 0,0001$; E x M: $p < 0,005$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Tabela 5 – Valores de C* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	17,9±3,2^{Aa}	12,6±2,8^{Ab}	12,8±1,0^{Ab}	14,3±1,2^{Ab}	13,7±1,1^{Ac}	14,3	20,3±1,6^{Aa}	12,7±1,6^{Bb}	13,9±1,2^{Bc}	14,3±1,0^{Bc}	13,7±1,5^{Bc}	15,0
75%O_2	18,7±2,8^{Ba}	23,7±1,0^{Aa}	21,1±1,3^{ABa}	21,4±1,6^{ABa}	20,6±2,3^{ABb}	21,1	21,2±0,8^{BCa}	23,8±1,3^{Aa}	21,7±0,8^{Bb}	22,0±1,3^{ABb}	19,8±1,2^{Cb}	21,7
0,2%CO	18,9±1,6^{Ba}	21,1±2,9^{ABa}	21,6±2,1^{ABa}	23,8±2,1^{Aa}	23,5±2,3^{Ab}	21,8	19,1±2,3^{Bab}	25,6±2,3^{Aa}	25,5±1,9^{Aa}	27,8±1,4^{Aa}	26,7±1,9^{Aa}	24,9
0,4%CO	20,1±2,1^{Ba}	23,7±3,6^{ABa}	23,9±3,1^{ABa}	26,2±3,5^{Aa}	28,3±1,7^{Aa}	24,4	17,5±0,8^{Cb}	23,6±2,2^{Ba}	25,8±3,8^{ABa}	27,3±1,9^{ABa}	27,9±1,8^{Aa}	24,4
Média	18,9	20,3	19,5	21,4	21,5	16,3	19,5	21,4	21,7	22,8	22,0	21,5

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-C] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-c] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E; T: $p < 0,0001$; M: $p < 0,005$; E x T: $p < 0,0001$; E x M: $p < 0,0005$; E x T x M: $p < 0,05$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Tabela 6 – Valores de C* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	16,9±1,0^{Ab}	14,6±0,9^{Bc}	14,7±1,1^{Bc}	16,3±0,5^{ABc}	16,8±1,7^{Ac}	15,9	19,2±2,5^{Aa}	14,3±1,3^{Cc}	14,8±0,8^{Cc}	16,5±0,6^{BCd}	17,8±1,0^{ABb}	16,5
75%O_2	17,2±1,4^{Cab}	21,9±0,8^{Ab}	18,7±1,4^{BCb}	19,7±1,5^{Bbc}	19,3±0,8^{BCc}	19,4	18,9±1,8^{Ba}	21,9±1,4^{Ab}	19,8±1,3^{ABb}	18,8±0,8^{Bc}	18,2±0,9^{Bb}	19,5
0,2%CO	18,3±1,3^{Bab}	23,5±1,9^{Aab}	25,4±2,4^{Aa}	22,7±4,5^{ABb}	25,4±1,9^{Ab}	23,1	16,7±1,8^{Ba}	25,9±1,0^{Aa}	26,6±1,6^{Aa}	27,6±0,5^{Ab}	27,9±2,9^{Aa}	24,9
0,4%CO	19,1±0,9^{Ca}	25,1±2,9^{Ba}	26,4±2,2^{ABa}	27,9±1,0^{ABa}	29,8±2,2^{Aa}	25,7	18,9±1,6^{Ca}	27,0±1,3^{Ba}	26,6±1,4^{Ba}	29,8±0,9^{Aa}	29,5±0,6^{Aa}	26,4
Média	17,9	21,3	21,3	21,6	22,8	21,0	18,4	22,3	21,9	23,2	23,3	21,8

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-C] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-c] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E; T: $p < 0,0001$; M: $p < 0,0005$; E x T: $p < 0,0001$; E x M: $p < 0,05$; E x T x M: $p < 0,001$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Tabela 7 – Valores de h* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	39,8±1,5^{Aa}	33,8±2,1^{BCa}	36,2±3,2^{ABCa}	32,0±3,8^{Ca}	37,5±3,9^{ABa}	35,7	41,1±0,6^{Aa}	35,5±2,6^{Ba}	38,9±3,2^{ABa}	38,8±1,9^{ABa}	38,2±2,8^{ABb}	38,5
75%O_2	40,2±1,8^{Aa}	34,3±1,4^{Ba}	35,2±2,3^{Ba}	34,6±2,2^{Ba}	36,9±2,7^{ABa}	36,2	40,6±1,1^{Aab}	37,0±1,2^{Ca}	37,8±1,5^{BCa}	40,1±1,9^{ABa}	41,7±1,7^{Aa}	39,4
0,2%CO	40,1±1,2^{Aa}	27,3±2,6^{Bb}	27,1±1,4^{Bb}	27,2±2,0^{Bb}	27,9±2,5^{Bb}	29,9	39,4±1,1^{Ab}	30,0±1,7^{Bb}	29,7±2,2^{Bb}	30,0±1,0^{Bb}	29,0±1,0^{Bc}	31,6
0,4%CO	41,0±0,3^{Aa}	28,2±2,4^{Bb}	27,9±0,7^{Bb}	27,4±2,2^{Bb}	28,1±1,5^{Bb}	30,5	39,7±1,2^{Aab}	28,3±2,3^{Bb}	28,4±1,8^{Bb}	28,4±1,9^{Bb}	28,0±0,9^{Bc}	30,6
Média	40,3	30,9	31,6	30,3	32,6	33,1	40,2	32,7	33,7	34,3	34,2	35,0

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-C] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-c] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E; T; M: $p < 0,0001$; E x T: $p < 0,0001$; E x M; T x M: $p < 0,0005$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Tabela 8 – Valores de h* de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	34,8±0,4^{Ab}	35,1±1,7^{Aa}	36,7±2,7^{Aa}	36,9±2,9^{Aa}	36,4±3,7^{Aa}	36,0	36,1±1,0^{Aa}	37,7±3,7^{Aa}	39,1±2,9^{Aa}	37,1±2,0^{Ab}	36,8±1,7^{Ab}	37,4
75%O_2	35,5±0,4^{Cab}	35,1±1,3^{Ca}	36,9±1,9^{BCa}	38,1±0,7^{ABa}	39,9±1,8^{Aa}	37,1	35,7±0,9^{Ca}	36,7±1,1^{Ca}	38,9±0,8^{Ba}	39,6±0,9^{ABa}	41,1±1,6^{Aa}	38,4
0,2%CO	34,8±0,6^{Ab}	26,5±1,2^{Bb}	27,0±1,3^{Bb}	27,6±0,5^{Bb}	26,8±0,5^{Bb}	28,5	35,2±1,3^{Aa}	28,2±0,9^{Bb}	28,0±0,9^{Bb}	28,2±0,9^{Bc}	28,4±0,8^{Bc}	29,6
0,4%CO	36,9±2,0^{Aa}	27,7±1,9^{Bb}	27,7±1,6^{Bb}	27,6±1,3^{Bb}	28,6±1,7^{Bb}	29,7	36,3±0,8^{Aa}	28,1±0,7^{Bb}	27,4±1,0^{Bb}	27,7±0,5^{Bc}	28,2±0,8^{Bc}	29,5
Média	35,5	31,1	32,1	32,5	32,9	32,8	35,8	32,7	33,3	33,1	33,6	33,7

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-C] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-c] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E; T; M: $p < 0,0001$; E x T: $p < 0,0001$; E x M: $p < 0,05$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Por outro lado, os bifes embalados a vácuo originários de machos inteiros apresentaram diminuição ($p < 0,05$) nos valores de L* quando comparados ao dia 0 e às demais atmosferas modificadas, indicando um escurecimento da carne ao longo do período experimental. Este fenômeno pode estar associado à eliminação do ar circundante na embalagem, resultando em uma coloração vermelho-púrpura, devido à ausência de um ligante na sexta posição coordenada do grupo heme (LAGERSTEDT; AHNSTRÖM; LUNDSTRÖM, 2011; MANCINI; HUNT, 2005; KROPF, 1993). Insausti et al. (1999), avaliando músculo *Longissimus dorsi* de diferentes raças de touros jovens armazenados sob vácuo e atmosfera modificada por 15 dias, verificaram menor luminosidade (L*) nos bifes embalados a vácuo que nos bifes embalados sobre atmosfera modificada, e este efeito foi mais evidente com o aumento do período de estocagem. Uma diminuição da luminosidade (L*) em lombos suínos embalados sob vácuo e atmosferas modificadas e estocados durante 20 dias, foi observada no estudo desenvolvido por Viana; Gomide e Vanetti, (2005). Estes autores relataram um maior decréscimo no valor de L* dos bifes embalados a vácuo quando comparado com as atmosferas modificadas.

Assim como em bovinos machos inteiros, bifes obtidos de LT e LL provenientes de fêmeas de descarte embalados sob as atmosferas com alta concentração de O_2 (75%O_2) e baixas concentrações de CO (0,2%CO e 0,4%CO) apresentaram maior intensidade de luminosidade (L*) com o aumento do período de estocagem (Figura 9). No entanto, estas atmosferas modificadas não diferiram entre si nos 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento. Este comportamento indica que a carne de fêmeas de descarte embaladas sobre atmosferas modificadas tornaram-se mais vermelhas e brilhantes ao longo do período de estocagem.

Os bifes embalados a vácuo obtidos de fêmeas de descarte apresentaram os menores valores de luminosidade (L*), quando comparados aos valores de L* das atmosferas modificadas ($p < 0,05$), indicando descoloração das amostras quando comparadas aos bifes embalados nas atmosferas com presença de O_2 e CO. No entanto, e contrariamente a machos inteiros, não foi detectada diferença estatística durante o período de estocagem para ambos os músculos nesta embalagem, sugerindo uma estabilidade dos pigmentos da carne (TAYLOR et al., 1990). Esta estabilidade de

cor é considerada como uma vantagem, e que a carne ainda será capaz de oxigenar quando exposta ao ar, após um período prolongado de estocagem (LAGERSTEDT; AHNSTRÖM; LUNDSTRÖM, 2011; TAYLOR et al., 1990). Em geral, os valores de luminosidade L* observados para os bifes de fêmeas de descarte podem ser classificados como característicos de carne fresca, encontrando-se na faixa de 34 a 39, recomendada por Purchas (1988).

A presença dos gases O_2 e CO nas embalagens favorecem a formação de compostos estáveis de cor, pela união da deoximioglobina ao O_2 (oximioglobina) e ao CO (carboximioglobina), conferindo uma coloração vermelha brilhante às carnes frescas, de boa aceitabilidade pelos consumidores (SEBRANEK; HOUSER, 2006; MANCINI; HUNT, 2005; FAUSTMAN; CASSENS, 1990).

Não foram observadas diferenças significativas entre os músculos LT e LL para ambos os sexos, embora numericamente a luminosidade da carne obtida de LT tendeu a ser ligeiramente mais baixa quando comparadas às amostras de LL para ambos os sexos. Contrariando os resultados encontrados nesta pesquisa, Torrescano et al. (2003) encontraram maior valor de L* ($p < 0,05$) em músculo LT (41,0) quando comparado ao LL (39,9) de machos inteiros.

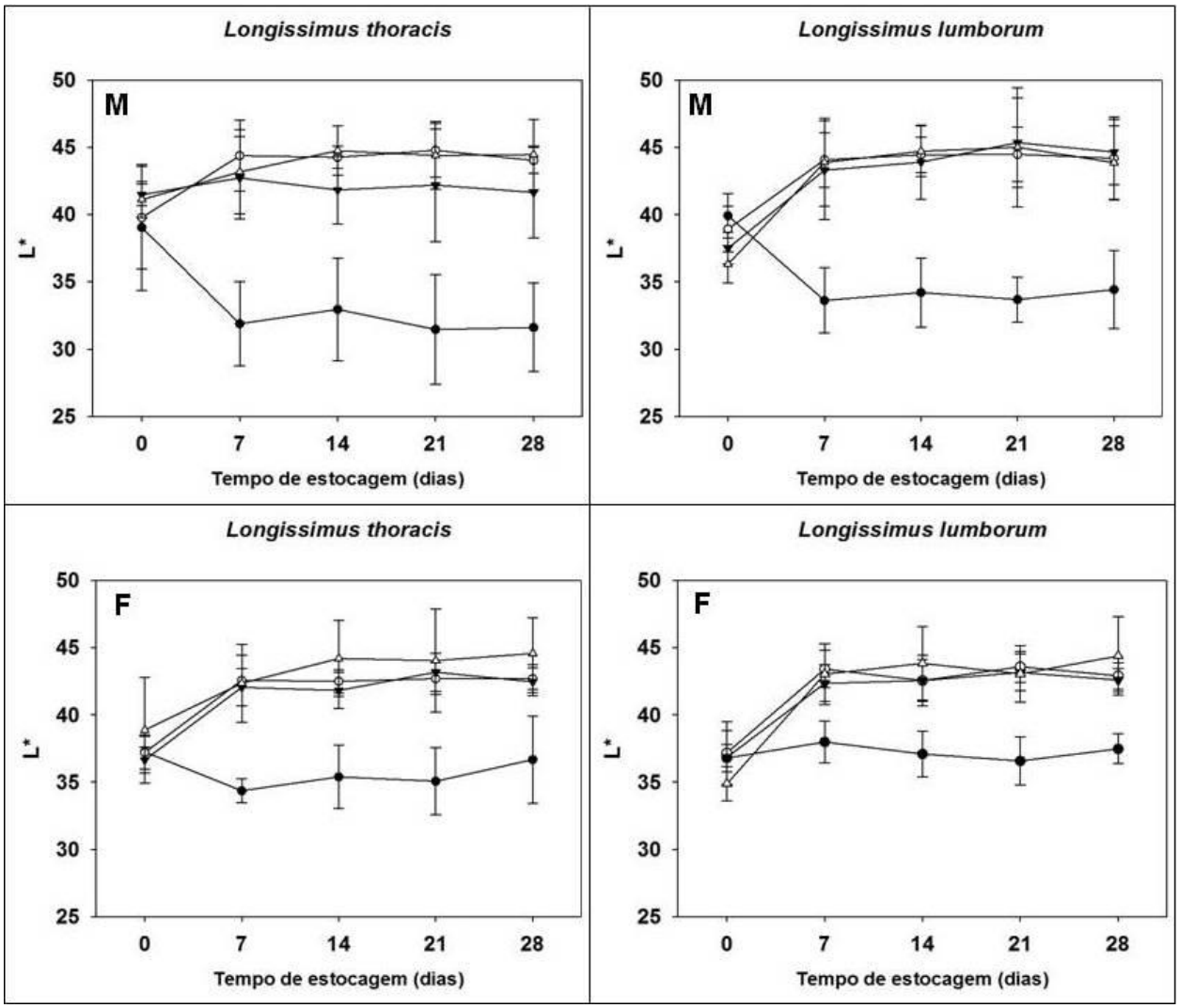

Figura 10 – Valores de L* de bifes obtidos de *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros (M) e fêmeas de descarte (F) estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias: Vácuo (—●—); 75%O_2 (—○—); 0,2%CO (—▼—) e 0,4%CO (—△—)

Em relação aos valores de croma (CIE C*) e ângulo hue (CIE h*), os bifes estocados em atmosferas anóxicas contendo CO (0,2% CO e 0,4% CO) apresentaram valores significativamente maiores para C* e menores para h* comparados com os valores dos bifes estocados em embalagens com O_2 (75% O_2) ou vácuo, para ambos os músculos e sexos avaliados por 28 dias de estocagem. A maior concentração de CO (0,4% CO) incidiu em um maior valor de C*, e diferenças significativas foram detectadas quando comparada com a atmosfera 0,2%CO no músculo LT de ambos os sexos ao final do período de estocagem. O aumento no valor de C* indica uma coloração

vermelha brilhante da carne atrativa ao consumidor. Este efeito é atribuído ao CO que tem a propriedade de se ligar à mioglobina formando o pigmento carboximioglobina (cor vermelho cereja), muito mais estável à oxidação quando comparada à oximioglobina, devido à forte ligação do CO ao sítio ferro-porfirina na molécula deoximioglobina (SØRHEIM; NISSEN; NESBAKKEN, 1999; WILKINSON et al., 2006).

Os valores de C* dos bifes de LT e de LL de machos inteiros embalados em atmosfera contendo CO foram significativamente superiores ($p < 0,05$) a partir dos 21 dias de estocagem no LT e a partir dos sete dias no LL, quando comparados ao valor de C* no dia 0. Em fêmeas de descarte, os valores de C* dos bifes de ambos os músculos embalados em atmosfera contendo CO foram significativamente superiores ($p < 0,05$) a partir dos sete dias de estocagem, quando comparados ao valor de C* no dia 0. O aumento da saturação da cor vermelha (C*) foi acompanhado da redução significativa de h* ($p < 0,05$), para ambos os músculos e sexos. No mesmo sentido, John et al., (2005) observaram que, com a adição de 0,4% de CO na atmosfera modificada, cortes de carne bovina armazenados sob refrigeração a 2ºC mantiveram a cor vermelho brilhante por até 21 dias, quando comparados a cortes estocados a vácuo que apresentaram cor marrom superficial após 14 dias. Resultados semelhantes foram encontrados em cortes de carne bovina, bem como carne bovina moída estocada em sistema com 0,5% de CO por até oito semanas de armazenamento (JAYASINGH et al., 2001). Adicionalmente, a carboximioglobina favorece a formação de uma cor vermelha desejável na carne (MANCINI; HUNT, 2005) e de ampla aceitabilidade por parte do consumidor, representando uma vantagem comparativa comercialmente à embalagem tradicional a vácuo.

Nas embalagens contendo alto teor de O_2 (75% O_2), o aumento da saturação da cor (C*), devido à oxigenação da mioglobina dos bifes (formando oximioglobina), foi observado somente até o 7º dia de estocagem ($p<0,05$). Durante esse período, os valores de C* foram superiores ao dia 0, enquanto que os valores de h* foram significativamente inferiores. Nos períodos subseqüentes os valores de C* e h* dos bifes de ambos os músculos e sexos, foram similares ao apresentado pela carne *in natura* no dia do processamento (dia 0). Provavelmente, no período transcorrido a partir do 14° dia de estocagem, a presença de O_2, facilitou a formação de metamioglobina,

mediante a oxidação do pigmento oximioglobina. Adicionalmente, este comportamento também pode estar associado à redução na pressão parcial de O_2 no interior da embalagem, devido à respiração mitocondrial ou atividade bacteriana (KENNEDY; BUCKLEY; KERRY 2004; JEONG; CLAUSS, 2011; WILKINSON et al., 2006).

Carnes embaladas em atmosferas com altas concentrações de O_2 sofrem descoloração aproximadamente aos sete dias de estocagem (SØRHEIM; NISSEN; NESBAKKEN, 1999). Em carne moída bovina proveniente dos músculos *Quadríceps femoris* ou *Semimembranosus*, *Adductor femoris* e *Gracilis* embalada em atmosferas com 80% de O_2, foi observado redução significativa da cor vermelha (C*) da carne a partir do 3º dia de estocagem a 4 e 6ºC (CONCEIÇÃO, 2002).

Os bifes oriundos dos músculos LT e LL de fêmeas de descarte estocados a vácuo apresentaram uma descoloração transitória entre o 7º e o 14º dia de estocagem, que diminuiu significativamente os valores de CIE C*, mas essa tendência se reverteu nos períodos subseqüentes quando os valores de C* foram similares ao do dia 0. Tal reversão não foi observada nos bifes em ambos os músculos de machos inteiros, os quais apresentaram valores de C* significativamente inferiores ($p < 0,05$) durante todo o período de estocagem avaliado, quando comparado ao dia 0 (Figura 11). Uma descoloração transitória pode ocorrer se a concentração residual de oxigênio for $\geq$ 0,04% para *Longissimus dorsi* (VENTURINI et al. 2006, GILL; JONES, 1994), podendo tornar-se irreversível se a concentração de oxigênio for suficientemente alta para exaurir a atividade enzimática e de cofatores responsáveis pela redução da metamioglobina no músculo (VENTURINI et al. 2009). Por este motivo, sistemas de embalagem livres de oxigênio têm tido aplicação limitada pelos frigoríficos que centralizam a operação de pré-embalagem da carne em bandeja (TAYLOR et al., 1990), contudo contudo, esta afirmação deixa de ser verdadeira se a composição gasosa possuir em sua constituição o gás CO (JEONG; CLAUS, 2011; WILKINSON et al., 2006; VIANA; GOMIDE; VANETTI, 2005; MANCINI; HUNT, 2005; SØRHEIM; OFSTAD; LEA, 2004; JAYASINGH et al., 2001).

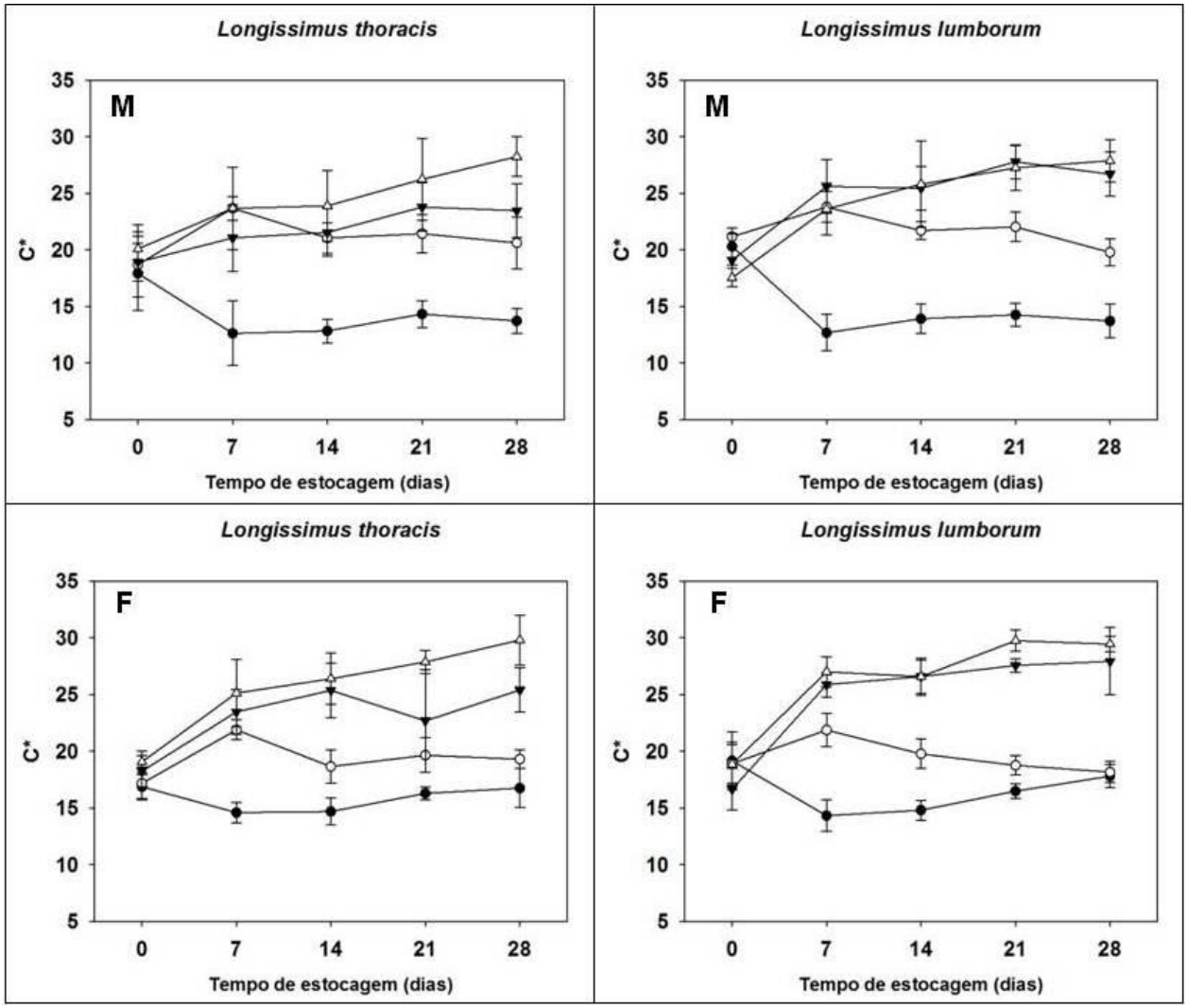

Figura 11 – Valores de C* de bifes obtidos de *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros (M) e fêmeas de descarte (F) estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias: Vácuo (—●—); 75%O_2 (—○—); 0,2%CO (—▼—) e 0,4%CO (—△—)

Houve uma incidência significante das atmosferas modificadas, tempo de estocagem e localização do músculo sobre os valores de h* (ângulo hue - intensidade de cor marrom) nos bifes de ambos os músculos e sexos. Na Figura 12 observa-se um comportamento semelhante nos valores de h* para os bifes obtidos de LT e LL de machos inteiros e fêmeas de descarte, evidente a partir do 7º dia de estocagem em todos os sistemas de embalagem.

Nos bifes embalados a vácuo e sob alta concentração de O_2 (75% O_2) verificou-se uma tendência crescente nos valores de h* ao longo do período experimental,

evidenciado a formação de coloração marrom nas amostras após 28 dias. Este escurecimento na coloração foi caracterizado pela manutenção do ângulo hue (h*) relativamente alto, associado a um decréscimo dos parâmetros de cor L* e C*, provavelmente causado pela oxidação do pigmento superficial da carne, favorecido pela presença de oxigênio residual e pelo período prolongado de estocagem (VIANA; GOMIDE e VANETTI, 2005; MANCINI; HUNT, 2005; RUIZ de HUIDOBRO et al, 2003).

Contrariamente, pode ser observado que bifes embalados em atmosferas modificadas contendo baixas concentrações de CO (0,2% CO e 0,4% CO) apresentaram menores valores de h* ao longo do tempo de estocagem, sugerindo a influência da estabilidade da formação do pigmento carboximioglobina, originado pela união da mioglobina com o CO, evitando desta forma, a formação de metamioglobina (coloração marrom) (HUNT et al., 2004; SEBRANEK; HOUSER, 2006).

A comparação entre sexos sugere que bifes obtidos dos músculos LT e LL de fêmeas de descarte apresentam menores valores de h* (32,8 e 33,7, respectivamente) quando comparados aos bifes oriundos de machos inteiros (33,1 e 35,0, respectivamente), indicando que a coloração de carne de fêmea é menos escura que a coloração de carne proveniente de machos inteiros. Estas diferenças podem estar associadas às concentrações de mioglobina no músculo, que é afetada por fatores como sexo, idade, dieta do animal, fatores genéticos e ambientais (LIVINGSTON; BROWN, 1981).

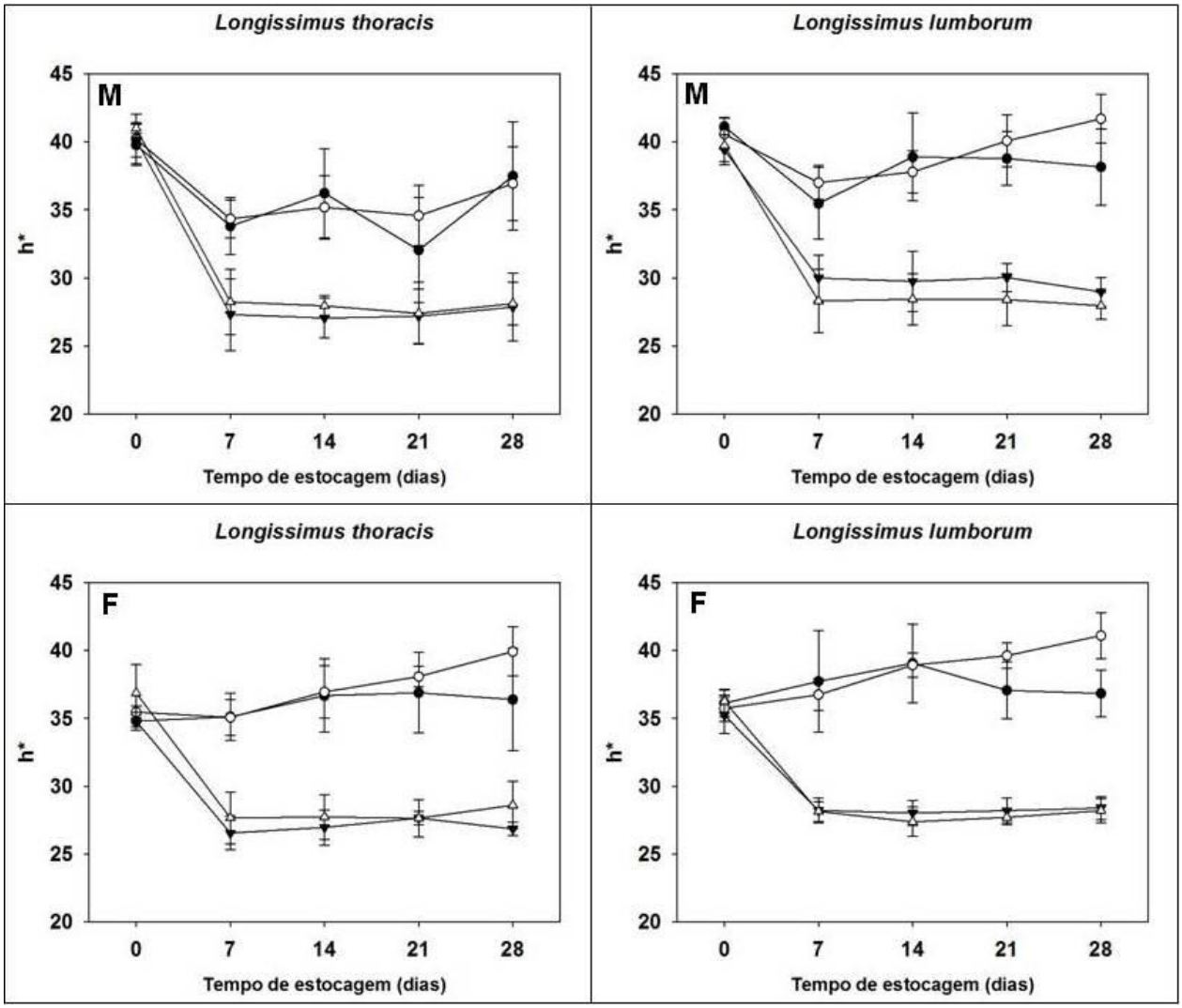

Figura 12 – Valores de h* de bifes obtidos de *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros (M) e fêmeas de descarte (F) estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias: Vácuo (—●—); 75%O_2 (—○—); 0,2%CO (—▼—) e 0,4%CO (—△—)

4.2.1 Curvas de Reflectância

Comprimentos de onda específicos podem ser obtidos a partir de curvas espectrais e usados para expressar estabilidade de cor vermelha da carne bovina exposta a diferentes atmosferas. Por meio da razão de reflectância em diferentes comprimentos de onda ou pela diferença de reflectância entre diferentes comprimentos de onda é possível quantificar a proporção de oximioglobina, metamioglobina e deoximioglobina (AMSA, 1991). Diferenças de reflectância entre os comprimentos de

onda 630nm e 580nm (R630-R580) ou a razão R630/R580 têm sido úteis para estimar a quantidade de oximioglobina em relação à metamioglobina em experimentos onde ocorre variação da cor (AMSA, 1991; STRANGE et al., 1974).

A Tabela 9 apresenta as diferenças de reflectância entre os comprimentos de onda 630nm e 580nm (R630-R580) sugeridas para estimar a variação de oximioglobina em relação à metamioglobina.

Tabela 9 - Efeito da interação atmosfera modificada x localização do músculo sobre a diferença de reflectância (R630-R580)

Embalagem[1]	Músculo	R630 – R580*	
		Macho inteiro	Fêmea de descarte
Controle (0d)	LT	20,24[a]	23,43[a]
Vácuo		14,14[b]	16,48[b]
75%O_2		19,55[a]	15,67[b]
0,2%CO		23,57[d]	26,41[d]
0,4%CO		31,39[f]	35,42[f]
Controle (0d)	LL	19,27[a]	16,27[b]
Vácuo		13,41[b]	23,57[a]
75%O_2		17,51[c]	12,50[c]
0,2%CO		31,26[f]	32,62[e]
0,4%CO		27,27[e]	33,59[e]

[1] Embalagem: Vácuo, 75%O_2/25%CO_2, 60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2, 40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2;
LT: *Longissimus thoracis*; LL: *Longissimus lumborum*
[a-f] Médias na coluna com letras diferentes subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$) para cada sexo

O aumento da porcentagem de metamioglobina em relação à oximioglobina pode ser acompanhado pela diminuição da diferença entre R630-R580. A porcentagem de reflectância nestes comprimentos de onda específicos foi obtida através das curvas espectrais (Figura 13 e 14).

A partir dos resultados apresentados na Tabela 9, pode-se observar que em geral, a carne embalada a vácuo e sob atmosfera modificada apresentou os menores valores de diferença de reflectância (R630 - R580) após 28 dias de estocagem, em comparação aos valores de diferença de reflectância obtidos para a carne fresca exposta somente ao ar (controle). Estes resultados indicam que a superfície da carne embalada a vácuo ou em altos teores de oxigênio favoreceu a oxidação superficial da carne de oximioglobina (vermelha) a metamioglobina (marrom). O aumento da diferença

de reflectância observado nos bifes de LL de bovinos fêmeas embalados a vácuo pode ter sido devido à maior atividade de redução de metamioglobina (MRA) nestes músculos comparados aos demais. Outros experimentos podem ser realizados para avaliar se a maior redução da metamioglobina em LL de bovinos fêmeas é devido a fatores intrínsecos, extrínsecos ou ambos.

As Figuras 13 e 14 mostram a forma geral das curvas de reflectância da carne bovina fresca exposta somente ao ar (Controle – 0 dia) e da carne bovina fresca acondicionada a vácuo ou em atmosfera modificada (75%O_2, 0,2%CO e 0,4%CO). A carne embalada em 75%O_2/25%CO_2 apresentou um formato de ombro em torno de 610nm e um platô em 630 nm que não foram observados nos demais tratamentos. Esta diminuição na reflectância em 630 nm associada ao aumento da reflectância entre 540 e 580 nm é característica da oxidação da oximioglobina a metamioglobina (AMSA, 1991). Resultados semelhantes foram encontrados por Mancini et al. (2005) ao embalarem carne bovina em atmosferas com altos teores de oxigênio (80%O_2/20%CO_2). Contrariamente, bifes estocados por 28 dias em embalagens com atmosferas anaeróbicas, 0,2% CO e 0,4% CO, apresentaram porcentagem de reflectância entre 580 e 630 superior ao da carne exposta somente ao ar (controle - 0 dia), indicando aumento da cor vermelha típica da carne fresca, independente do tipo de músculo ou do sexo do animal. Em geral, o aumento da concentração de CO de 0,2% para 0,4% aumentou a proporção de oximioglobina (vermelha) na superfície dos bifes, com exceção dos bifes de LL de carne bovina de fêmea onde o aumento da concentração de CO não foi acompanhado de aumento da cor vermelha, ou aumento da diferença de R680 - R580. Aparentemente, a embalagem do LL em atmosferas anaeróbicas favoreceu a manutenção da atividade redutora da metamioglobina, como observado acima na carne embalada a vácuo. Portanto, a adição de 0,2% de CO neste músculo foi suficiente para estabilizar a cor superficial dos bifes.

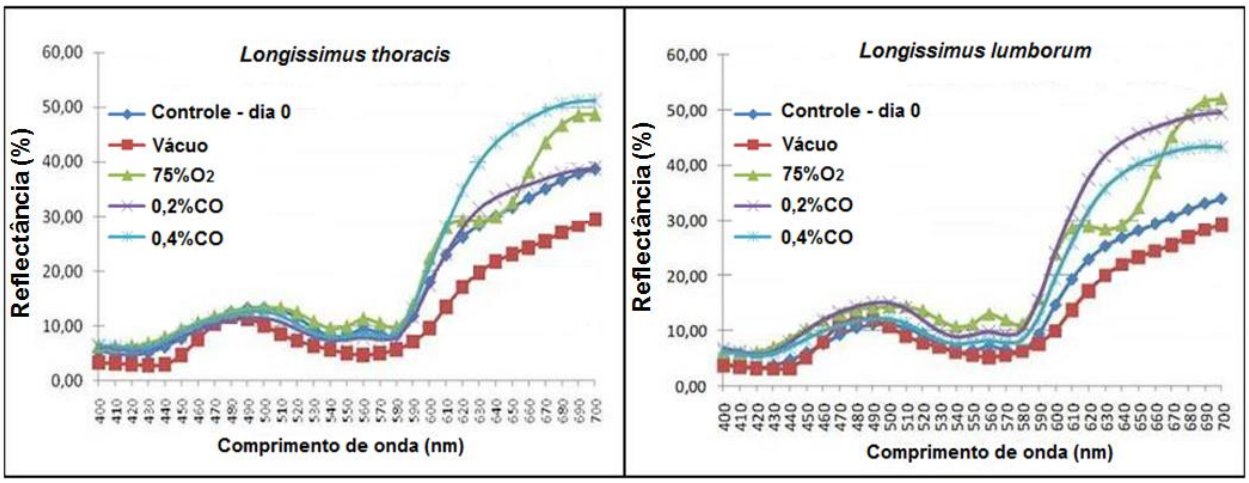

Figura 13 – Curvas de reflectância de bifes obtidos de *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros nos diferentes sistemas de embalagem durante estocagem a 2ºC por 28 dias

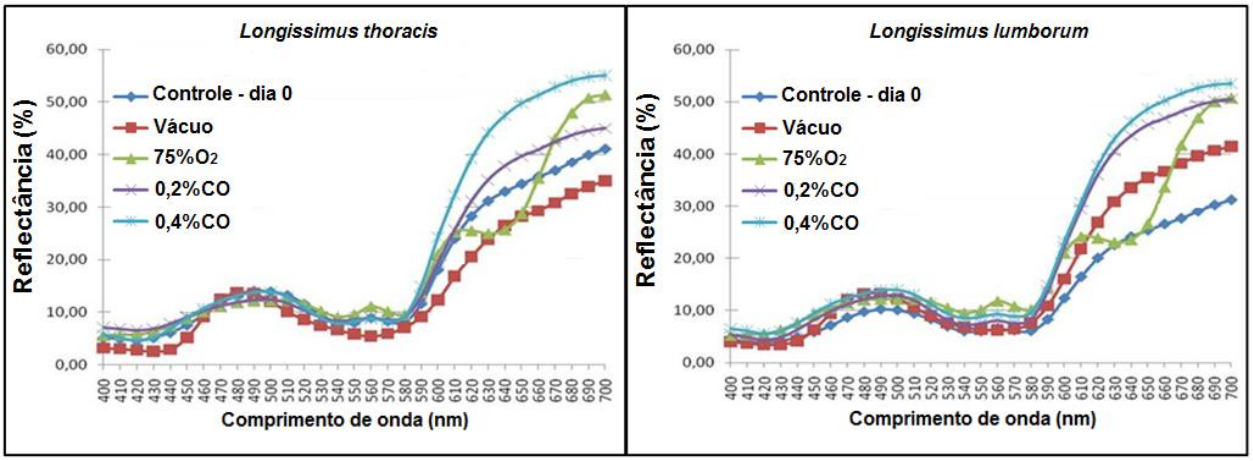

Figura 14 – Curvas de reflectância de bifes obtidos de *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte nos diferentes sistemas de embalagem durante estocagem a 2ºC por 28 dias

4.3 pH

Os valores de pH dos bifes obtidos dos músculos LT e LL de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte, embalados a vácuo e nas atmosferas modificadas durante 28 dias de estocagem, estão expressos nas Tabelas 10 e 11. O tempo de estocagem inicial (dia = 0) foi utilizado para caracterizar a matéria prima 48 horas *post mortem*, anteriormente à etapa de embalagem a vácuo ou em atmosfera modificada.

Tabela 10 – Valores de pH de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	6,3±0,2^{Aa}	6,0±0,4^{ABa}	5,7±0,1^{Ba}	5,8±0,1^{Ba}	5,8±0,2^{Ba}	5,9	5,6±0,0^{Ac}	5,9±0,3^{Aa}	5,7±0,2^{Aa}	5,8±0,2^{Aa}	5,9±0,2^{Aa}	5,8
75%O_2	5,8±0,1^{Ab}	5,9±0,4^{Aa}	5,7±0,3^{Aa}	5,8±0,2^{Aa}	5,9±0,2^{Aa}	5,8	5,7±0,2^{Ac}	5,8±0,2^{Aa}	5,6±0,1^{Aa}	5,7±0,1^{Aa}	5,7±0,1^{Aa}	5,7
0,2%CO	5,7±0,0^{Ab}	6,1±0,4^{Aa}	5,9±0,4^{Aa}	5,9±0,3^{Aa}	6,0±0,4^{Aa}	5,9	6,0±0,3^{Ab}	5,9±0,3^{Aa}	5,6±0,2^{Aa}	5,7±0,2^{Aa}	5,8±0,3^{Aa}	5,8
0,4%CO	5,7±0,0^{Ab}	5,8±0,2^{Aa}	5,7±0,2^{Aa}	5,8±0,2^{Aa}	5,8±0,2^{Aa}	5,8	6,3±0,0^{Aa}	5,9±0,5^{ABa}	5,8±0,4^{Ba}	5,8±0,3^{Ba}	5,9±0,2A^{Ba}	5,9
Média	5,9	6,0	5,8	5,8	5,9	5,9	5,9	5,9	5,7	5,8	5,8	5,8

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-B] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-c] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: T: $p < 0,0005$; E x M: $p < 0,005$; E x T x M: $p < 0,0005$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Tabela 11 – Valores de pH de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	5,7±0,1^{Aa}	5,7±0,3^{Aa}	5,5±0,0^{Aa}	5,5±0,1^{Aa}	5,5±0,2^{Ab}	5,6	5,5±0,1^{Ba}	5,7±0,3^{Aa}	5,4±0,1^{Ba}	5,5±0,1^{ABb}	5,5±0,1^{ABb}	5,5
75%O_2	5,7±0,1^{ABa}	5,8±0,2^{ABa}	5,6±0,2^{Ba}	5,7±0,1^{ABa}	6,0±0,4^{Aa}	5,8	5,5±0,1^{Ba}	5,7±0,3^{ABa}	5,6±0,2^{Ba}	5,7±0,1^{ABa}	6,0±0,2^{Aa}	5,7
0,2%CO	5,7±0,0^{Aa}	5,6±0,3^{Aa}	5,5±0,1^{Aa}	5,6±0,0^{Aa}	5,7±0,1^{Aab}	5,6	5,6±0,1^{ABa}	5,5±0,2^{ABa}	5,4±0,1^{Ba}	5,6±0,0^{ABab}	5,8±0,2^{Aab}	5,6
0,4%CO	5,7±0,1^{Aa}	5,6±0,3^{Aa}	5,6±0,2^{Aa}	5,7±0,1^{Aa}	5,5±0,3^{Ab}	5,6	5,6±0,1^{Aa}	5,6±0,2^{Aa}	5,6±0,1^{Aa}	5,7±0,1^{Aa}	5,7±0,1^{Ab}	5,6
Média	5,7	5,7	5,6	5,6	5,7	5,6	5,6	5,6	5,5	5,6	5,8	5,6

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-B] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-b] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: T: $p < 0,0005$; E x M: $p < 0,005$; E x T x M: $p < 0,0005$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Em geral, os valores de pH observados para os bifes de bovinos machos inteiros originários dos músculos LT e LL apresentaram-se inconsistentes, distribuídos em uma faixa de pH baixo (< 5,8), intermediário (5,8 a 6,2) e alto (> 6,2). Estes resultados podem ser atribuídos à alta variabilidade dos animais utilizados; sistema de produção a pasto; suscetibilidade ao estresse pré-abate, que favorece uma menor ação glicosídica muscular; mistura de animais de diferentes lotes; efeito de dominância; restrição alimentar; menor quantidade de gordura de cobertura e intramuscular; fatores genéticos e manejo pós-abate (PULFORD et al., 2008; LOWE et al., 2004; SILVA; PATARATA; MARTINS, 1999). Circunstâncias que promovam uma queda significativa de reservas de glicogênio muscular dará origem a carne com pH final alto, se o animal for abatido antes de suas reservas de energia serem restauradas (SILVA; PATARATA; MARTINS, 1999).

Bifes obtidos dos músculos LT e LL de machos inteiros não apresentaram efeito das diferentes atmosferas modificadas sobre os valores de pH ao longo do período de estocagem, exceto as amostras classificadas como DFD (pH > 6,2), identificadas no dia do processamento (dia 0) nas embalagens a vácuo do músculo LT e em atmosfera modificada 0,4%CO do músculo LL, que apresentaram um decréscimo nos valores de pH ($p < 0,05$) após 28 dias (Figuras 15 e 16). Esta diminuição do pH na embalagem à vácuo, pode ser atribuída a um provável crescimento de bactérias lácticas, devido a condições anaeróbias e o seu metabolismo, tendem a reduzir o pH. Por sua vez, a alta concentração de dióxido de carbono (CO_2) na atmosfera 0,4%CO pode favorecer a diluição desse gás na água presente na carne, produzindo ácido carbônico (H_2CO_3) e devido à capacidade tampão da carne o pH do meio é reduzido (ALONSO et al., 2011; SEBRANEK; HOUSER, 2006; JAKOBSEN; BERTELSEN, 2002).

Estudos mostram que o último pH apresenta uma relação direta com o estresse *ante-mortem.* O macho inteiro é mais suscetível a estresse pré-abate e isto influencia nos valores altos de pH. Em um estado de estresse, a mobilização do glicogênio muscular, se for reduzido ou esgotado no momento do abate, o grau de acidificação pós-morte será menor, acarretando uma carne de pH maior (JELENÍKOVÁ et al., 2008; SILVA; PATARATA; MARTINS, 1999; BELTRÁN et al., 1997). Os valores de pH encontrados para machos inteiros no atual estudo são superiores aos observados por

Lindahl et al. (2010), que obtiveram valores de pH entre 5,4 a 5,6 para bifes embalados a vácuo e em 80%O_2/20%CO_2. Porém, corroborando com o presente trabalho, estes autores não observaram diferenças significativas durante o período de estocagem avaliado (10 a 15 dias).

Os valores de pH dos bifes obtidos de fêmeas de descarte embalados nas diferentes atmosferas modificadas variaram entre 5,4 e 6,0. Em geral, valores de pH para os bifes de fêmea de descarte são considerados normais podendo ser atribuídos à menor suscetibilidade ao estresse pré-abate, ao maior depósito de gordura de cobertura e intramuscular, quando comparado com animais machos inteiros e capacidade tampão da carne (NORMAN, 1982; LUCHIARI FILHO, 2000; JAKOBSEN, 2003).

Bifes obtidos de LT e LL de fêmeas de descarte apresentaram valores estáveis ao longo do período experimental nas diferentes atmosferas, excetuando a atmosfera com O_2 (75% O_2), que teve um incremento significativo ($p < 0,05$) do pH (6,0) aos 28 dias de estocagem sobre refrigeração a 2 °C em ambos os músculos (Figuras 17 e 18). Este efeito pode estar associado à alta concentração de O_2, que inibe o crescimento de bactérias lácticas, e favorece o desenvolvimento de *Pseudomonas*. No mesmo sentido, Muhlisin et al. (2010) ao embalarem hambúrgueres de carne bovina em atmosferas modificas sob alta concentração de O_2, obtiveram valores altos de pH, atribuindo tal comportamento ao desenvolvimento de microorganismos aeróbios.

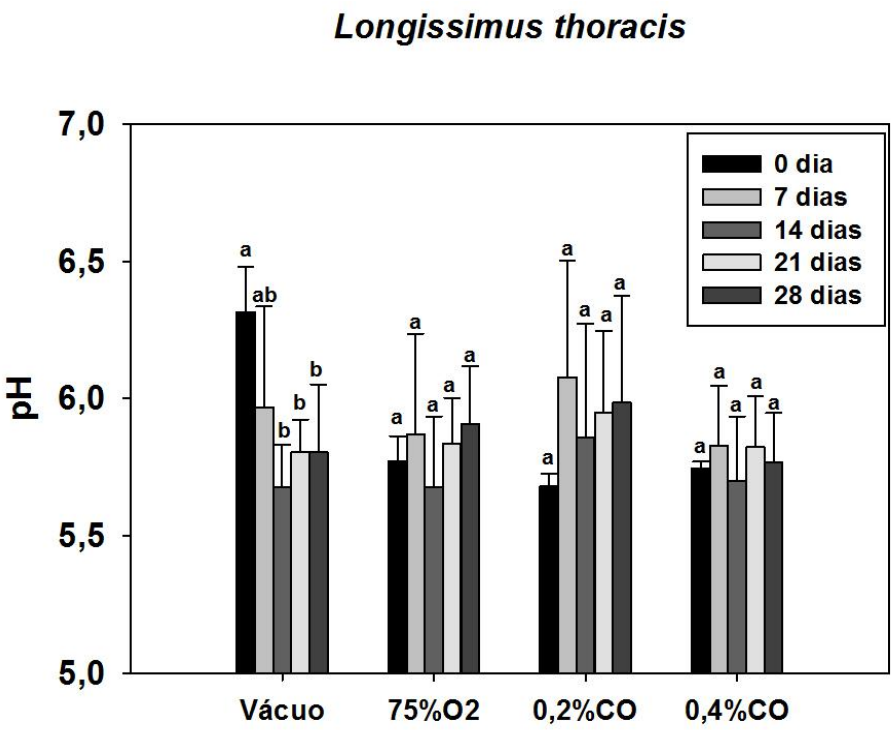

Figura 15 – Valores de pH de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

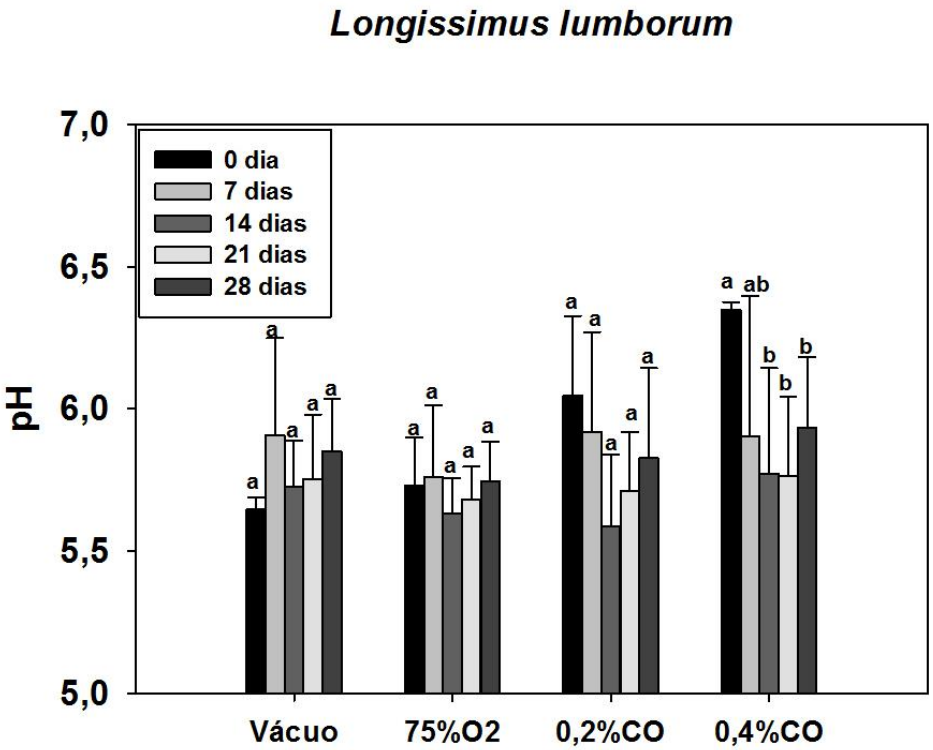

Figura 16 – Valores de pH de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

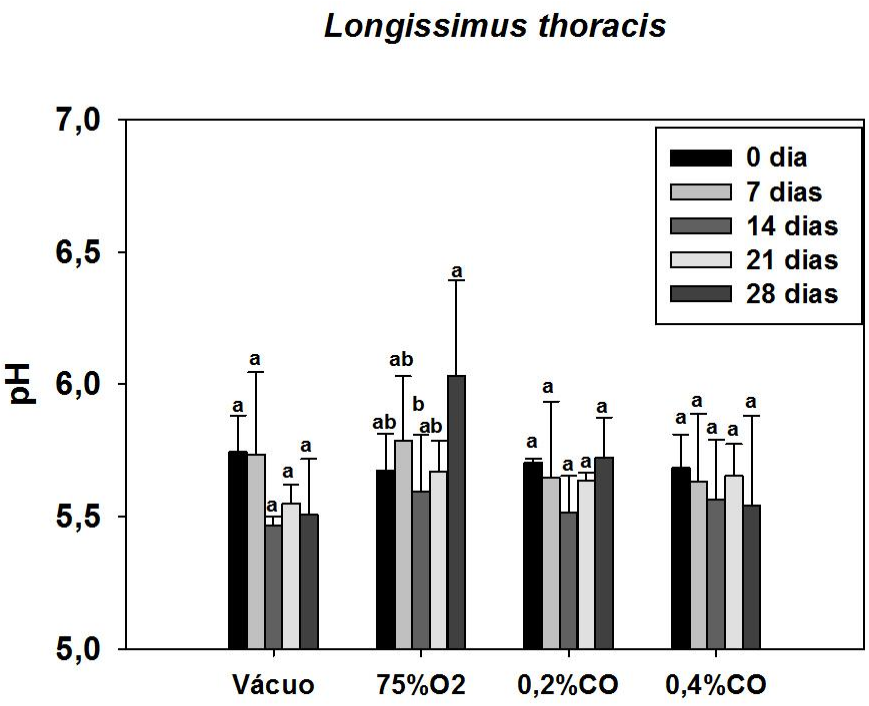

Figura 17 – Valores de pH de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

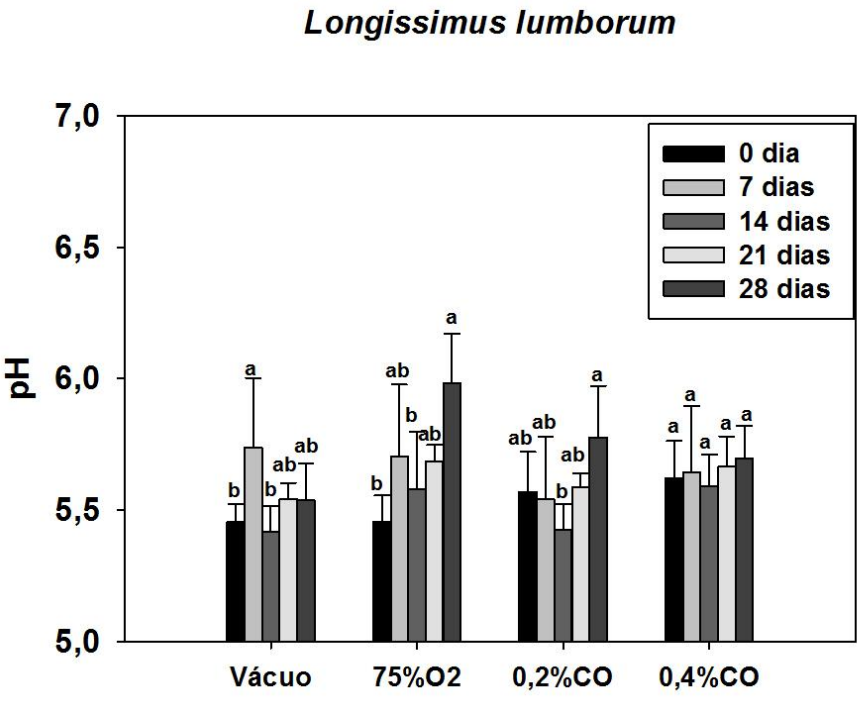

Figura 18 – Valores de pH de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

A distribuição dos valores de pH dos músculos LT e LL durante o período experimental é apresentado na Figura 19 por cada sexo e tipo de embalagem. Dos resultados, observa-se a ampla variabilidade e os maiores valores do pH de bifes obtidos de machos inteiros quando comparado com o pH de bifes obtidos de fêmeas de descarte para as diferentes atmosferas. Os menores valores de pH em bifes obtidos de fêmeas de descarte, como resultado da sua menor suscetibilidade ao estresse pré-abate, favorecem uma adequada transformação do músculo em carne (LAWRIE; LEDWARD, 2006).

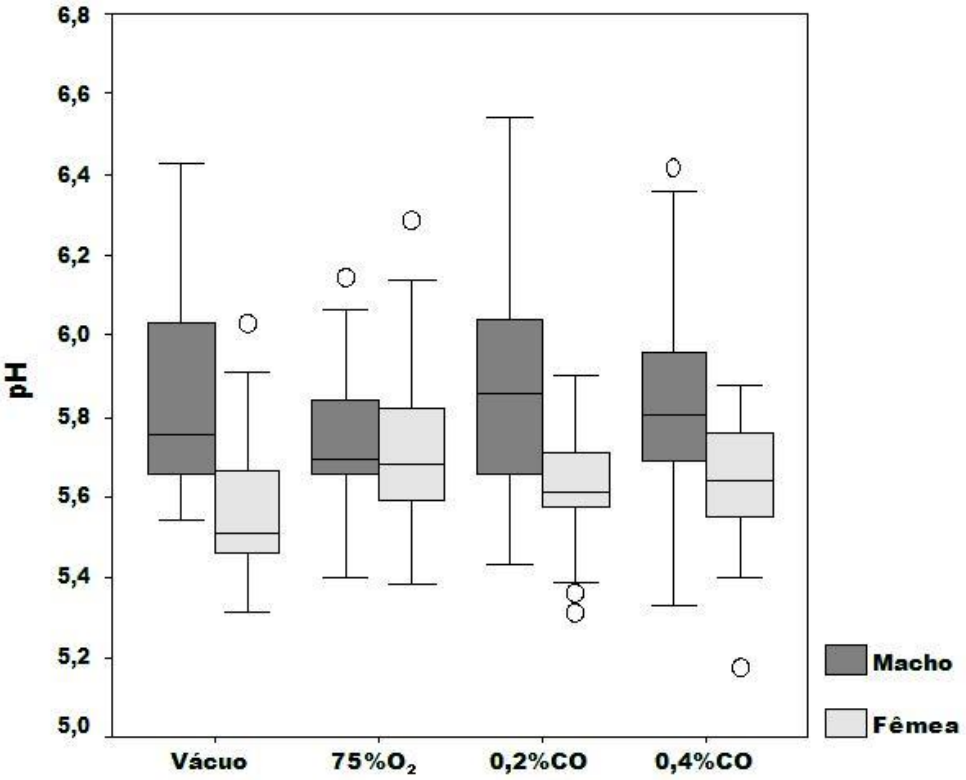

Figura 19 – Distribuição dos valores de pH de bifes obtidos dos músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte para os diferentes tipos de embalagem

Carnes com pH mais elevado são mais escuras e suscetíveis à deterioração bacteriana. No entanto, esta carne está associada a uma taxa de maturação mais elevada (WATANABE; DALEY; DEVINE, 1996), tendendo a uma carne mais macia ao final do período de estocagem (BOUTON et al., 1973). Os altos valores de pH

aumentam a maciez devido à máxima atividade de calpaína em pH neutro (JELENÍKOVÁ; PIPEK; STARUCH, 2008). Estudos prévios tem relacionado o alto pH com valores de força de cisalhamento (FC) mais baixos (SANZ et al., 1996; RESTLE et al., 1996). Por outro lado, valores de pH intermediários, resultam em um menor grau de maciez da carne durante a maturação, pois pH entre 5,8 e 6,2 não representam condições ótimas para a atividade de calpaínas e catepsinas (SILVA; PATARATA; MARTINS, 1999). Lowe et al., (2004) indicaram que pH intermediários são freqüentemente observados em carnes de bovinos machos inteiros na Nova Zelândia, derivado de um sistema de produção a pasto com baixa dieta de calorias e períodos de estresse vivenciados previamente ao abate, resultando em valores de FC variáveis.

Os resultados deste experimento apresentaram correlações significativas entre pH e variáveis de maciez (MFI, $p < 0,01$ e FC, $p < 0,0001$) para machos inteiros (Item 4.10, Tabela 24), corroborando a influencia do pH sobre enzimas proteolíticas existentes nas células do músculo esquelético (MELODY et al, 2004; CARLIN et al, 2006; SIMMONS et al, 2008; ROSENVOLD et al, 2010).

4.4 Oxidação lipídica

Os valores das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) dos bifes obtidos de LT e LL de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte embalados sob os diferentes tipos de embalagens estão expressos nas Tabelas 12 e 13.

Os valores de TBARS dos bifes de machos inteiros obtidos dos músculos LT e LL embalados nos diferentes tipos de embalagens apresentaram um comportamento instável ao longo do período experimental (Figuras 20 e 21). Foi observado aumento inconstante e não significante, nos valores de TBARS até os 21 dias de estocagem nas embalagens, exceto a atmosfera com 0,2% de CO que apresentou aumento significante quando comparado ao dia 0, em ambos os músculos avaliados.

Tabela 12 – Valores de TBARS (mg malonaldeído/kg carne) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	0,11±0,03^{Aa}	0,15±0,07^{Aa}	0,09±0,01^{Ab}	0,15±0,03^{Ab}	0,09±0,01^{Aa}	0,12	0,10±0,04^{ABa}	0,15±0,02^{ABa}	0,08±0,02^{ABa}	0,15±0,01^{Aa}	0,08±0,01^{Bb}	0,11
75%O_2	0,16±0,05^{Aa}	0,14±0,04^{Aa}	0,17±0,05^{Aab}	0,19±0,01^{Aab}	0,18±0,07^{Aa}	0,17	0,13±0,04^{Aa}	0,20±0,04^{Aa}	0,26±0,13^{Aa}	0,28±0,07^{Aa}	0,23±0,01^{Aa}	0,22
0,2%CO	0,11±0,02^{Ba}	0,14±0,01^{ABa}	0,22±0,06^{Aa}	0,21±0,05^{Aab}	0,15±0,03^{ABa}	0,17	0,14±0,03^{Ba}	0,14±0,04^{Ba}	0,17±0,05^{ABa}	0,27±0,04^{Aa}	0,12±0,05^{Bab}	0,17
0,4%CO	0,16±0,05^{Aa}	0,25±0,05^{Aa}	0,23±0,01^{Aa}	0,29±0,06^{Aa}	0,18±0,05^{Aa}	0,22	0,13±0,04^{ABa}	0,20±0,04^{ABa}	0,22±0,07^{ABa}	0,27±0,08^{Aa}	0,08±0,01^{Bb}	0,18
Média	0,14	0,17	0,18	0,21	0,15	0,17	0,13	0,17	0,18	0,24	0,13	0,17

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-B] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-b] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E; T: $p < 0,0001$; E x T: $p < 0,05$; E x M: $p < 0,01$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Tabela 13 – Valores de TBARS (mg malonaldeído/kg carne) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	0,14±0,00^{BCa}	0,21±0,02^{Aa}	0,12±0,00^{Ca}	0,17±0,02^{Ba}	0,11±0,01^{Cb}	0,15	0,14±0,04^{Aa}	0,21±0,03^{Aa}	0,12±0,01^{Aa}	0,21±0,06^{Aa}	0,13±0,02^{Aa}	0,16
75%O_2	0,16±0,00^{Aa}	0,31±0,09^{Aa}	0,22±0,06^{Aa}	0,28±0,06^{Aa}	0,25±0,03^{Aa}	0,24	0,15±0,03^{Aa}	0,29±0,08^{Aa}	0,36±0,17^{Aa}	0,27±0,04^{Aa}	0,23±0,02^{Aa}	0,26
0,2%CO	0,13±0,04^{Aa}	0,25±0,02^{Aa}	0,28±0,15^{Aa}	0,25±0,09^{Aa}	0,23±0,03^{Aa}	0,23	0,11±0,03^{Ba}	0,25±0,06^{Aa}	0,18±0,04^{ABa}	0,21±0,03^{ABa}	0,22±0,08^{ABa}	0,19
0,4%CO	0,14±0,02^{Aa}	0,20±0,04^{Aa}	0,29±0,14^{Aa}	0,19±0,05^{Aa}	0,18±0,07^{Aab}	0,20	0,15±0,01^{Aa}	0,26±0,02^{Aa}	0,25±0,01^{Aa}	0,25±0,05^{Aa}	0,22±0,02^{Aa}	0,23
Média	0,14	0,24	0,23	0,22	0,19	0,21	0,14	0,25	0,23	0,24	0,20	0,21

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-C] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-b] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E; T: $p < 0,0001$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem

No final do período experimental (28 dias) foi verificada uma redução não significante, nos valores de TBARS para o músculo LT de machos inteiros em todos os tratamentos quando comparado com o período prévio (21 dias). Em LL está redução foi significante nos ambientes anóxicos (vácuo, 0,2%CO e 0,4%CO) e não significante na atmosfera com O_2. Esta redução no final do período experimental pode estar relacionada à ação da combinação do malonaldeído (MAD) com as proteínas da carne, formando compostos estáveis, que conduzem a uma subestimação no valor final de TBARS (SHAMBERGER et al., 1997).

Os valores de TBARS encontrados nos bifes de machos inteiros embalados nas atmosferas modificadas foram maiores quando comparados com os bifes embalados a vácuo, e isto foi evidente a partir dos 14 dias de estocagem para ambos os músculos. Este comportamento sugere um processo desacelerado da oxidação lipídica da carne neste último tipo de embalagem. Com a retirada do ar atmosférico da embalagem, a capacidade do O_2 de catalisar a oxidação lipídica nos bifes durante o armazenamento foi parcialmente inativada (AHN et al., 1998).

Da mesma forma, bifes de fêmeas de descarte apresentaram um incremento nos valores de TBARS ao longo do período experimental, independente do tipo de embalagem ou da localização do músculo (LT ou LL), exceto nos bifes embalados a vácuo no final do período experimental (28 dias) quando comparado com o dia 0. Igual que em machos inteiros, um comportamento decrescente nos valores de TBARS foi observado a partir dos 21 dias de estocagem em bifes de LT e LL nas diferentes atmosferas avaliadas (Figuras 22 e 23).

Embora não foram detectadas diferenças significativas notórias nos valores de TBARS das atmosferas modificadas, houve uma tendência ao aumento da oxidação lipídica nas atmosferas modificadas quando comparado ao vácuo. Estudos prévios têm sugerido que a alta concentração de O_2 e/ou CO_2 em embalagens sob atmosfera modificada, aliado a períodos prolongados de armazenamento, favorecem a oxidação de lipídios, influenciando diretamente na estabilidade oxidativa da carne (ESMER et al., 2011; MARTÍNEZ et al., 2005; KENNEDY; BUCKLEY e KERRY, 2004; O'GRADY et al., 2000; JAKOBSEN; BERTELSEN, 2000; JAYASINGH et al., 2002; ZAKRYS et al., 2008; CLAUSEN et al., 2009). Os aumentos eventuais observados em bifes embalados a

vácuo ao longo do período experimental, podem ter sido favorecidos por pequenas quantidades de oxigênio residual, que promoveram reações adversas como a oxidação de lipídios e/ou descoloração (GROBBEL et al., 2008; MORALES-CASTRO; OCHOA-MARTÍNEZ, 2010).

Valores relativamente baixos de TBARS foram encontrados nesta pesquisa em comparação à estudos prévios, que relatam valores entre 0,5 e 4,0 mg de malonaldeído/kg de carne (LUND et al, 2007b; CLAUSEN et al., 2009; YILMAZ; DEMIRCI, 2010; ESMER et al., 2011). Estas discrepâncias podem ser atribuídas aos diferentes sistemas de produção, processamento e armazenamento da carne que incluem fatores como a raça do animal, alimentação, metodologias, temperatura de armazenagem, abrigo de luz, entre outros, influenciando no processo de oxidação lipídica (SEBRANEK; HOUSER, 2006; SELANI et al., 2011).

Os valores de TBARS deste experimento, tanto em bifes de machos inteiros quanto em bifes de fêmeas de descarte em todos os tratamentos avaliados não foram superiores a 0,40 mg MAD/kg de amostra, demonstrando a eficiência dos sistemas de armazenamento, permanecendo abaixo da percepção sensorial e dentro do limite aceitável para o consumo. Valores de TBARS superiores a 1,0 mg malonaldeído/kg de carne podem ser considerados rançosos ou oxidados (LIMBO et al., 2010; VEBERG et al., 2006; JAYASINGH et al., 2002; OCKERMAN, 1976; TARLADGIS et al., 1960), pois representam o conteúdo dos produtos secundários da oxidação lipídica, principalmente aldeídos (ou carbonilas), que contribuem para o off-flavors de carne e produtos cárneos oxidados (YILMAZ; DEMIRCI, 2010). Valores semelhantes ao presente estudo foram encontrados por Venturini (2007) avaliando atmosferas com 60%CO_2/0,2%CO e 99,8%CO_2/0,2%CO em bifes bovinos de *Longissimus dorsi*. Por outro lado, Luño et al. (2000) obtiveram valores de 0,70 mg de malonaldeído/kg em bifes bovinos de *Longissimus dorsi* durante estocagem por 29 dias em atmosferas contendo 24%O_2/50%CO_2 associadas a 0,25 e 1% CO.

Dos resultados expressados nas Tabelas 8 e 9 observam-se maiores valores de TBARS em bifes originários de fêmeas de descarte quando comparados com machos inteiros. Carnes originárias de animais fêmeas são mais suscetíveis à oxidação lipídica, principalmente quando estocados sob alta concentração de O_2 (50 a 80%), devido à

maior quantidade de gordura de marmoreio quando comparado com machos inteiros, o que torna mais passível de sofrer oxidação lipídica (CLAUSEN et al., 2009; CHURCH; WOOD, 1992; JEREMIAH et al., 1991;).

Avaliando ambos os músculos, não foram observadas diferenças significativas entre os valores de TBARS dos bifes obtidos do LT e LL de machos inteiros e fêmeas de descarte. Em machos inteiros, ambos os músculos apresentaram médias gerais de 0,17 mg MAD/kg de carne e 0,21 mg MAD/kg em fêmeas de descarte, sugerindo que estas duas porções do músculo *Longissimus dorsi* (LT e LL) apresentaram estabilidade à oxidação lipídica similar para cada sexo.

Os baixos valores de TBARS observados no presente estudo podem estar associados à baixa quantidade de ácido graxos poliinsaturados ou a possível presença de antioxidantes naturais na carne de bovinos zebuínos (*Bos indicus*). Cadeias longas de ácidos graxos poliinsaturados são oxidados mais facilmente quando comparados aos ácidos graxos saturados (ZHANG et al., 2007). No geral, carnes bovinas são caracterizadas por possuírem baixa quantidade de ácidos graxos poliinsaturados, no entanto, animais zebuínos (*Bos indicus*) apresentam uma relação ainda mais reduzida, quando comparada a outras raças (BRAGAGNOLO, 2001). Bovinos produzidos no país possuem uma alimentação fundamentada, quase que exclusivamente, a pasto. Estudos reportam que animais alimentados a base de pastagem apresentam valores importantes de α-tocoferol na carne (O'GRADY et al., 1998; LUND et al., 2007b; CLAUSEN et al., 2009), sendo um potente antioxidante natural que pode atuar na prevenção da oxidação lipídica durante estocagem sob refrigeração.

Os resultados de TBARS para machos inteiros e fêmeas de descarte foram significativamente correlacionados com os valores tióis livres (oxidação protéica, Item 4.3, Tabela 24), pH e parâmetros de cor. Assim como com parâmetros de maciez em fêmeas (Item 4.3, Tabela 25).

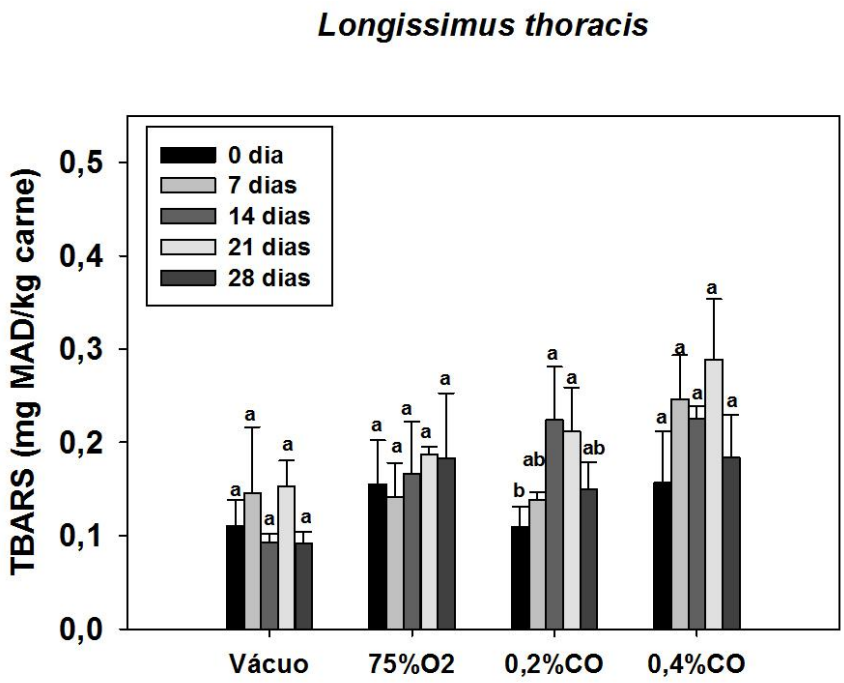

Figura 20 – Valores de TBARS (mg MAD/kg carne) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

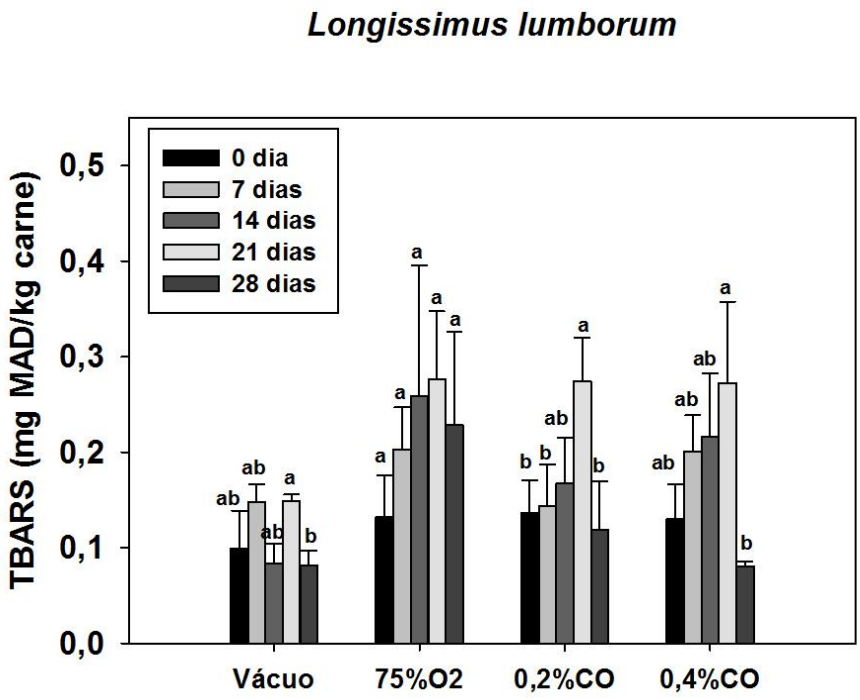

Figura 21 – Valores de TBARS (mg MAD/kg carne) de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

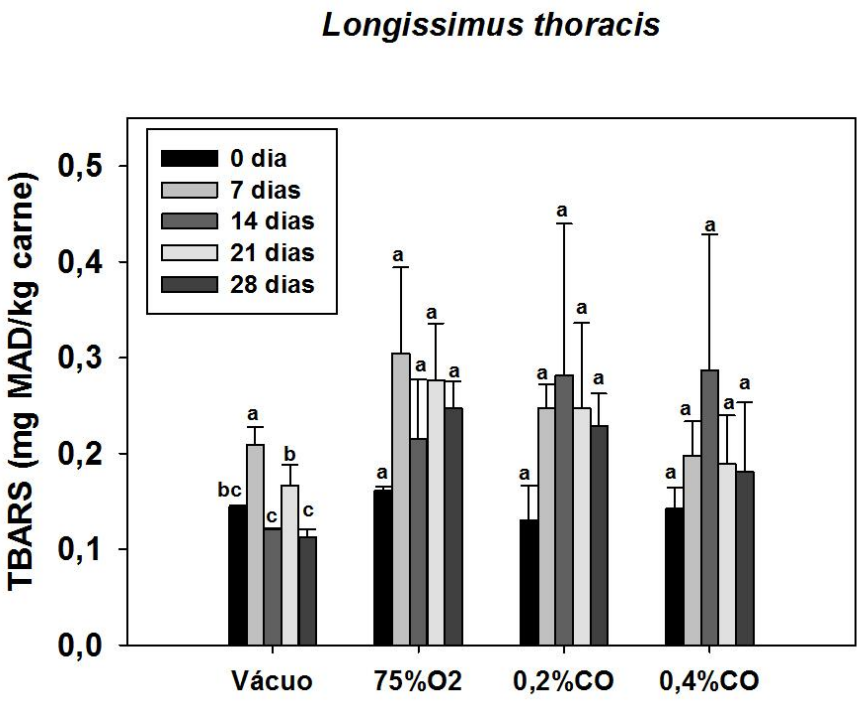

Figura 22 – Valores de TBARS (mg MAD/kg carne) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

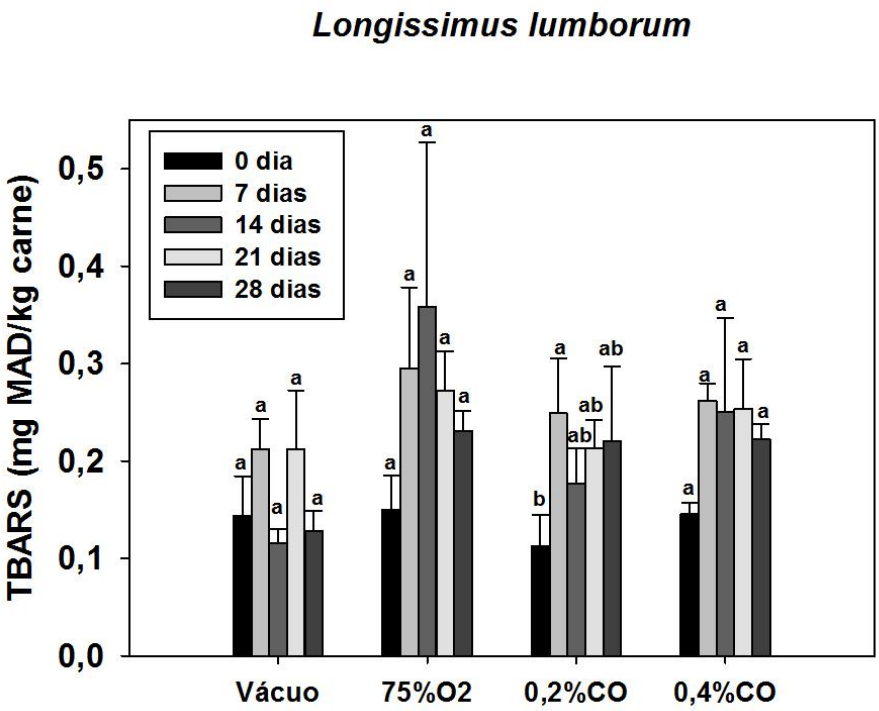

Figura 23 – Valores de TBARS (mg MAD/kg carne) de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

4.5 Oxidação protéica

Os valores de tióis livres (nmol de tióis livres/mg de proteína) dos bifes obtidos de LT e LL de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte embalados sob as diferentes atmosferas estão expressos nas Tabelas 14 e 15.

Dos resultados, foi observado uma diminuição ($p < 0,0001$) nos valores de tióis livres dos bifes de ambos os sexos e músculos embalados nos diferentes tipos de embalagem ao longo dos 28 dias de estocagem (Figuras 24 a 27). Bifes embalados em ambientes anóxicos (vácuo, 0,2%CO e 0,4%CO) apresentaram maiores valores numéricos (significantes e não significantes) de tióis livres quando comparados com a atmosfera sob alta concentração de O_2 (75%O_2), exceto no dia 7° de bifes de LL originários de machos inteiros, sugerindo que a carne originária de ambos os sexos e músculos embalados em atmosfera com O_2 sofreram um processo acelerado de oxidação protéica, quando comparados com os outros tipos de embalagem, onde este processo oxidativo foi desacelerado. Estudos sugerem que a alta concentração de O_2 nas embalagens e os períodos prolongados de armazenamento, favorecem o processo acelerado de oxidação protéica em carnes, influenciando negativamente na maciez (XIONG, 2000; TØRNGREN, 2003; MERCIER, 2004; LINDAHL et al., 2011; CLAUSEN et al., 2009; LAGERSTEDT; LUNDSTRÖM; LINDAHL, 2011). A presença deste gás favorece a oxidação das proteases e ligações cruzadas de proteínas responsáveis pelo amaciamento natural da carne (LUND et al. 2007ab), resultando em uma menor maciez.

Um estudo recente observou diminuição de maciez em bifes de bovinos machos inteiros, quando estocados sob alta concentração de O_2 (80%O_2), atribuindo a esse gás o papel de maior facilitador da oxidação protéica (LAGERSTEDT et al., 2011). Corroborando com esta pesquisa, Clausen et al. (2009) avaliando bifes do músculo *Longissimus dorsi* de fêmeas de descarte em diferentes atmosferas contendo entre 50% e 80% de O_2, estocados por 20 dias a 4 °C, revelaram que altas concentrações de O_2 influenciaram negativamente na maciez da carne.

Tabela 14 – Valores de tióis livres (nmol de tióis livres/mg de proteína) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	80,0±3,9^{Aa}	72,4±0,2^{Bab}	68,1±3,6^{BCab}	64,6±0,6^{Cab}	63,7±2,5^{Cab}	69,8	71,0±2,8^{Ab}	69,9±1,3^{Ab}	66,5±2,9^{Aab}	67,5±2,8^{Aa}	66,3±1,6^{Aa}	68,2
75%O_2	70,7±4,8^{Ab}	68,1±3,0^{ABc}	61,5±4,6^{ABb}	62,3±3,5^{ABb}	59,3±1,5^{Bb}	64,4	70,7±2,2^{Ab}	70,1±1,6^{Ab}	62,2±2,3^{Bb}	60,9±1,8^{Bb}	53,6±0,4^{Cb}	63,5
0,2%CO	80,3±0,9^{Aa}	73,1±1,0^{Ba}	69,7±1,2^{BCa}	65,6±2,1^{Cab}	65,3±3,3^{Cab}	70,8	78,5±0,8^{Aa}	76,7±2,2^{ABa}	68,8±4,5^{BCab}	63,3±2,6^{Ca}	64,4±3,3^{Ca}	70,3
0,4%CO	81,6±1,0^{Aa}	69,5±3,9^{Bbc}	69,5±1,2^{Ba}	69,6±1,1^{Ba}	67,2±2,6^{Ba}	71,5	81,8±0,3^{Aa}	77,9±0,8^{Aa}	70,0±2,1^{Ba}	66,0±1,7^{BCa}	63,0±4,1^{Ca}	71,7
Média	78,1	70,8	67,2	65,5	63,9	69,1	75,5	73,7	66,9	64,4	61,8	68,5

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-C] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-c] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E; T: $p < 0,0001$; E x T; E x T x M: $p < 0,0001$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Tabela 15 – Valores de tióis livres (nmol de tióis livres/mg de proteína) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	$75,7±1,0^{Aab}$	$73,8±2,7^{ABab}$	$68,6±4,2^{BCa}$	$66,3±1,7^{Ca}$	$64,9±2,1^{Ca}$	69,9	$77,6±1,6^{Aa}$	$68,5±2,9^{Bab}$	$67,9±2,6^{Ba}$	$68,8±1,5^{Ba}$	$65,1±2,0^{Ba}$	69,6
75%O_2	$76,9±3,6^{Aab}$	$67,9±2,9^{Bb}$	$63,5±2,9^{Bb}$	$60,2±1,2^{Bb}$	$52,3±3,0^{Cb}$	64,2	$72,5±1,0^{Ab}$	$67,6±4,1^{Ab}$	$60,0±1,2^{Bb}$	$54,2±0,0^{Bc}$	$55,5±1,9^{Bb}$	62,0
0,2%CO	$70,5±2,3^{Ab}$	$70,7±1,4^{Aab}$	$70,7±2,2^{Aa}$	$64,2±0,7^{Ba}$	$60,7±1,3^{Ba}$	67,4	$74,0±2,7^{Aa}$	$67,6±0,5^{Bab}$	$68,6±1,5^{ABa}$	$61,4±2,6^{Cb}$	$64,0±2,1^{BCa}$	67,1
0,4%CO	$79,6±2,7^{Aa}$	$76,8±4,6^{Aa}$	$72,4±0,5^{Aa}$	$65,5±2,1^{Ba}$	$65,5±2,4^{Ba}$	72,0	$75,8±3,1^{Aab}$	$72,0±3,1^{ABa}$	$68,4±0,5^{Ba}$	$66,4±2,1^{BCa}$	$63,9±2,5^{Ca}$	69,3
Média	75,7	72,3	68,8	64,1	60,9	68,3	75,0	68,9	66,2	62,7	62,1	67,0

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-C] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-c] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E, T: $p<0,0001$; M: $p<0,01$; ExT, ExTxM: $p<0,0001$; TxM: $p<0,05$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Bifes embalados em ambientes anóxicos (vácuo, 0,2%CO e 0,4%CO) foram menos suscetíveis à oxidação protéica, observando-se um processo oxidativo desacelerado. Neste estudo, o nível de oxidação protéica para bifes embalados em atmosferas com CO foi menor numericamente ao vácuo, porém os resultados não foram estatisticamente diferentes. Em relação ao CO, uma maior concentração deste gás (0,4%CO) favoreceu uma menor oxidação protéica ao final do período de estocagem. No caso das atmosferas contendo CO, este fenômeno pode estar associado à propriedade deste gás de se ligar ao pigmento muscular mioglobina da carne, produzindo o composto carboximioglobina, caracterizada por ser uma proteína mais estável à oxidação quando comparada à oximioglobina formada na presença de O_2, devido à forte ligação do CO ao complexo ferro-porfirina na molécula de mioglobina (JEONG; CLAUSS, 2011). Além disso, Besser e Kramer (1972) propuseram que o CO pode exibir uma atividade antioxidante. Como os pigmentos mioglobina e hemoglobina podem promover reações oxidativas, o CO agiria como uma enzima inativadora da oxidação lipídica e/ou protéica (LUÑO et al., 2000). A proteção antioxidante natural do músculo varia de acordo com o tipo de alimentação do animal, o tipo de músculo e a duração do período de armazenamento, mas geralmente permanece ativa por alguns dias após a morte do animal (FILGUERAS et al. 2010; RENERRE et al., 1998). Isto pode limitar o teor de tióis livres no período anterior do armazenamento de carnes, mas, geralmente, a exposição de carne ao O_2 aumenta o processo de oxidação. No nosso caso, o período de estocagem prolongado (28 dias) em embalagem a vácuo afetou moderadamente a oxidação de proteínas em bifes oriundos dos músculos LT e LL, devido a ausência de oxigênio.

Valores de tióis livres próximos aos observados neste experimento foram relatados por Martinaud et al. (1997) em carne bovina, Lund et al. (2008) em suínos e Smet et al. (2008) em hamburguer de frango.

Avaliando cada porção do músculo *Longissimus dorsi*, observa-se que os bifes obtidos do músculo LT de machos inteiros e fêmeas de descarte apresentaram maiores valores de tióis livres (M: 69,1 nmol de tióis livres/mg de proteína; F: 68,3 nmol de tióis livres/mg de proteína) quando comparado aos bifes obtidos do músculo LL (M: 68,4 nmol de tióis livres/mg de proteína; F: 66,9 nmol de tióis livres/mg de proteína), porém

diferenças significativas ($p < 0,01$) somente foram observadas em fêmeas de descarte. O músculo LL é caracterizado por possuir maior diâmetro de fibra muscular, quando comparado ao músculo LT (MIGDAL et al., 2005), isto resulta em maior número de sarcômeros e maior número de proteínas miofibrilares suscetíveis a oxidação.

Como previamente discutido, o processo de oxidação protéica influencia na maciez da carne, e isto pode ser conferido com os resultados obtidos no presente estudo, através das análises de MFI e FC para bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte (Tabelas 10, 11 e 18, 19, respectivamente). Porém, correlações significativas foram verificadas somente em fêmeas de descarte entre Tiol e MFI ($p < 0,01$) e entre Tiol e FC ($p < 0,05$) (Item 4.3, Tabela 20). Estudos prévios também encontraram correlações entre parâmetros de maciez e oxidação protéica de carnes (CLAUSEN et al., 2009; LUND et al., 2007ab).

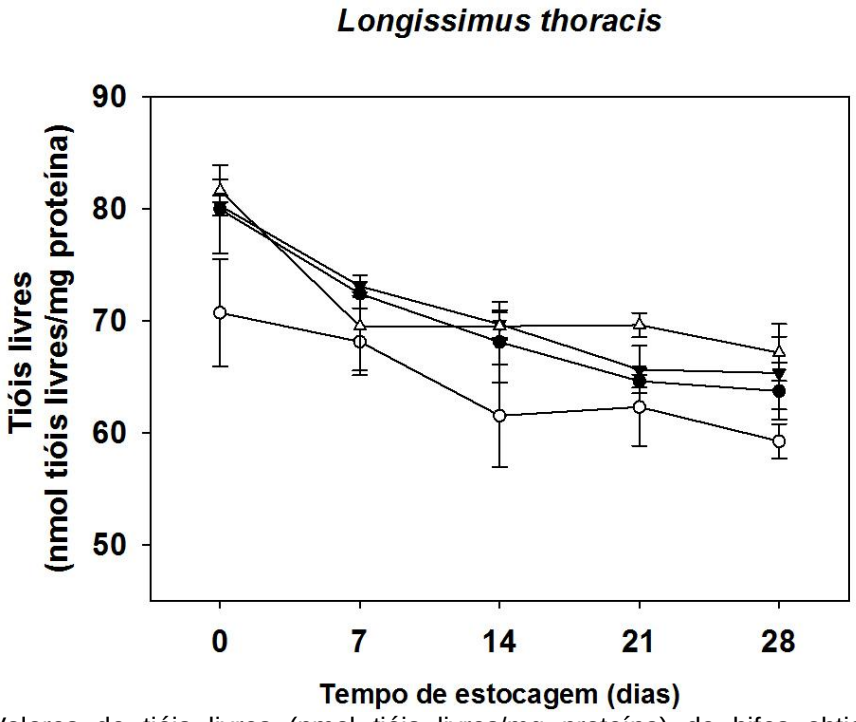

Figura 24 – Valores de tióis livres (nmol tióis livres/mg proteína) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias: Vácuo (—●—); 75%O_2 (—○—); 0,2%CO (—▼—) e 0,4%CO (—△—)

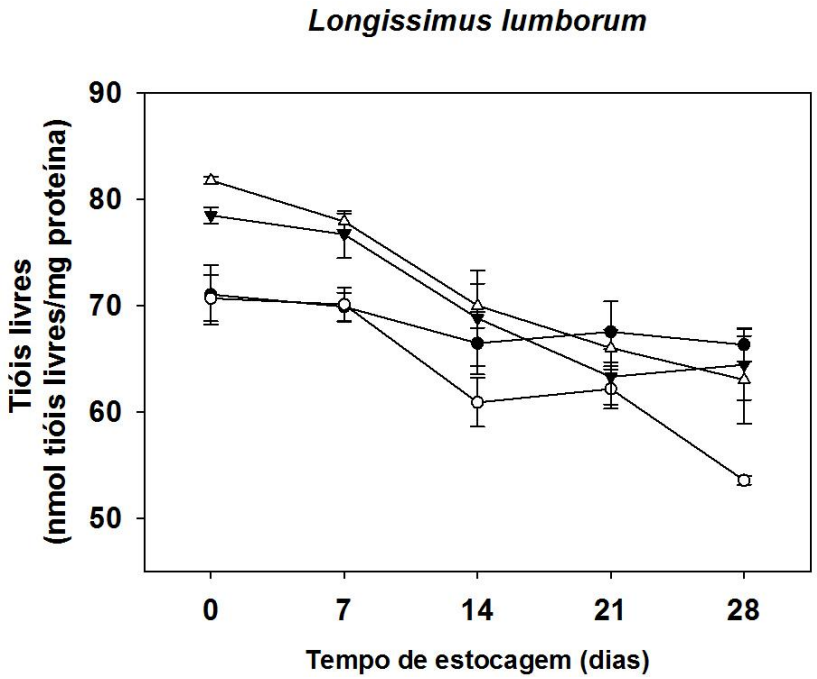

Figura 25 – Valores de tióis livres (nmol tióis livres/mg proteína) de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias: Vácuo (—●—); 75%O_2 (—○—); 0,2%CO (—▼—) e 0,4%CO (—△—)

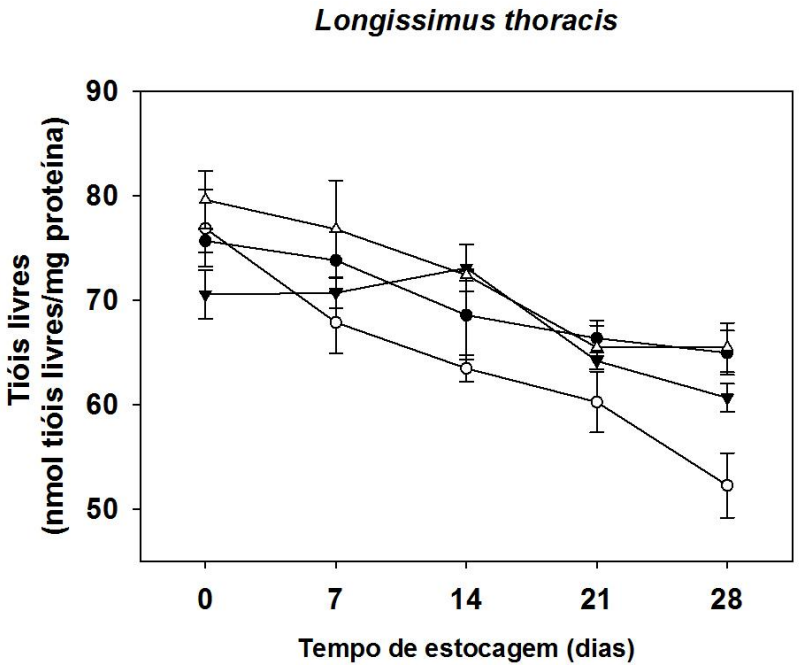

Figura 26 – Valores de tióis livres (nmol tióis livres/mg proteína) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias: Vácuo (—●—); 75%O_2 (—○—); 0,2%CO (—▼—) e 0,4%CO (—△—)

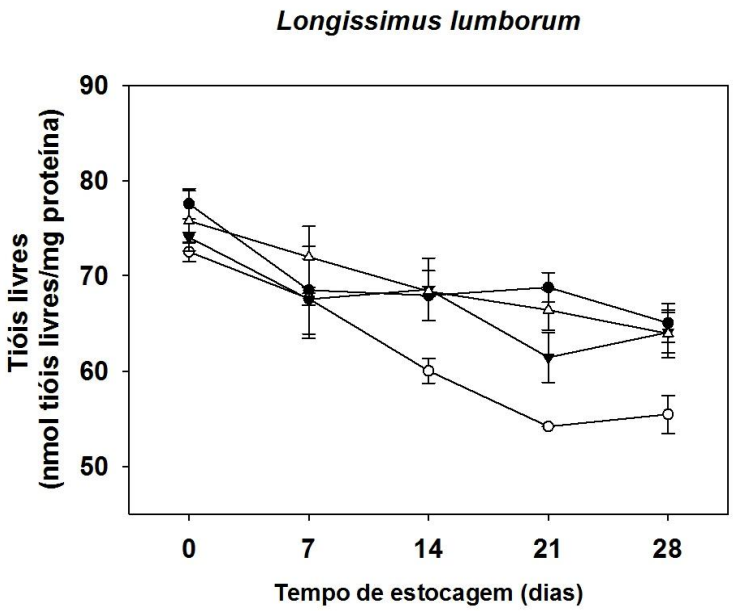

Figura 27 – Valores de tióis livres (nmol tióis livres/mg proteína) de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias: Vácuo (—●—); 75%O_2 (—○—); 0,2%CO (—▼—) e 0,4%CO (—△—)

Neste trabalho, observa-se que o processo de oxidação protéica ocorreu mais aceleradamente que o processo de oxidação lipídica. Contrariamente, Ma e Xiong (2011) sugerem um desenvolvimento mais rápido de produtos secundários da oxidação lipídica (medida por TBARS) em comparação com carbonilas e tióis livres. Isso sugere que os mecanismos que regem a estabilidade oxidativa tanto lipídica quanto protéica em carnes estocadas sob sistemas de embalagens são diferentes (LUND; HVIID; SKIBSTED, 2007b). Contudo, somente os resultados de oxidação protéica de bifes de fêmeas de descarte foram correlacionados significativamente ($p < 0,01$) com os valores de oxidação lipídica (Item 4.10, Tabela 25).

4.6 Índice de fragmentação miofibrilar (MFI)

Os valores de MFI dos bifes obtidos de LT e LL de machos inteiros e fêmeas de descarte embalados sob as diferentes tipos de embalagem por um período de 28 dias estão expressos nas Tabelas 16 e 17.

Tabela 16 – Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	91,3±3,9^{Aa}	59,7±1,3^{Cb}	64,7±1,0^{BCb}	70,1±2,7^{Bb}	88,5±2,2^{Aa}	74,9	29,6±4,5^{Dc}	62,6±2,4^{Ba}	58,1±2,3^{BCb}	52,2±5,0^{Cb}	72,6±2,7^{Ab}	55,0
75%O_2	65,3±3,8^{Ab}	33,4±4,5^{Bc}	63,5±5,3^{Ab}	58,5±3,4^{Ab}	57,6±4,1^{Ac}	55,7	43,2±5,7^{Bbc}	36,2±5,6^{Bb}	39,9±3,9^{Bc}	43,2±4,2^{Bb}	66,7±1,0^{Ac}	45,8
0,2%CO	32,2±2,8^{Cc}	80,6±3,0^{Ba}	102,5±3,0^{Aa}	94,3±7,7^{Aa}	92,3±3,0^{Aa}	80,4	55,9±6,6^{Cb}	66,2±4,3^{BCa}	70,6±0,8^{ABa}	80,8±6,8^{Aa}	83,5±3,8^{Aa}	71,4
0,4%CO	40,7±2,6^{Cc}	53,6±7,1^{Bb}	64,9±1,1^{ABb}	71,6±5,5^{Ab}	71,9±2,9^{Ab}	60,5	82,7±3,7^{Aa}	70,3±4,2^{Ba}	73,8±4,9^{ABa}	79,0±1,8^{ABa}	78,7±0,3^{ABa}	76,9
Média	57,4	56,8	73,9	73,6	77,6	67,9	52,9	58,8	60,6	63,8	75,4	62,3

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-C] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-c] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E, T, M: $p < 0,0001$; E x T, E x M, T x M, E x T x M: $p < 0,0001$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Tabela 17 – Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	39,7±2,3^{Cb}	71,7±3,0^{Bb}	80,9±5,7^{Aa}	79,4±1,8^{ABab}	87,5±1,7^{Aa}	71,8	94,8±6,2^{Aa}	74,9±4,0^{Ba}	86,9±4,2^{ABab}	92,8±5,9^{Aa}	90,6±4,1^{Aab}	88,0
75%O_2	37,9±0,7^{Cbc}	73,4±6,2^{ABb}	64,4±6,3^{Bb}	73,9±3,8^{ABb}	78,3±3,3^{Ab}	65,6	80,9±1,9^{Ab}	62,9±3,6^{Bb}	79,2±7,4^{Ab}	80,1±2,5^{Ab}	80,2±4,7^{Ab}	76,7
0,2%CO	62,5±3,9^{Ba}	74,8±5,7^{Bb}	90,0±6,9^{Aa}	88,0±3,0^{Aa}	84,5±3,3^{Aab}	80,0	35,1±2,0^{Dc}	76,3±5,9^{Ca}	96,0±3,3^{Aa}	81,5±2,4^{BCab}	92,3±5,0^{ABa}	76,2
0,4%CO	33,1±1,8^{Cc}	90,1±1,9^{Aa}	89,2±3,2^{Aa}	70,5±5,6^{Bb}	81,4±4,9^{Aab}	72,9	36,9±2,4^{Cc}	74,5±4,6^{Bab}	81,5±2,0^{Bb}	81,5±5,4^{Bab}	100,4±6,4^{Aa}	75,0
Média	43,3	77,5	81,1	78,0	82,9	72,6	61,9	72,2	85,9	84,0	90,9	79,0

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-C] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-c] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E, T, M: $p < 0,0001$; E x T, E x M, T x M, E x T x M: $p < 0,0001$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Porção do músculo

Devido à ampla variabilidade dos animais utilizados neste estudo, diferenças significativas ($p < 0,0001$) foram encontradas nos valores de MFI da carne fresca após 48 horas *postmortem* (dia 0). Bifes obtidos de ambos os músculos de machos inteiros apresentaram alta maciez, no início do período experimental, quando designados nas embalagens a vácuo e em atmosfera modificada 75%O_2 para LT e na embalagem com 0,4%CO para LL. Estes bifes não apresentaram diferenças estatísticas nos valores de MFI ao 28º dia quando comparados aos valores do dia inicial (dia 0).

Por sua vez, bifes obtidos de ambos os músculos de fêmeas de descarte designados nas embalagens com 0,2%CO para LT e nas embalagens a vácuo e 75%O_2 para o músculo LL, apresentaram alta maciez no início do período experimental, quando comparados com os bifes designados aos outros tipos de embalagem. Este fenômeno observado em ambos os sexos, pode ser resultado da fragmentação acelerada durante as 48 horas *post mortem* nos bifes, influenciado provavelmente por fatores como alto pH, principalmente em machos (Item 4.1.3, Tabela 6). Valores altos de pH são propícios à ação de enzimas endógenas responsáveis pelo amaciamento natural como previamente referenciado. (SILVA; PATARATA; MARTINS, 1999).

Houve efeito significativo ($p < 0,0001$) das diferentes atmosferas avaliadas ao longo do período experimental para ambos os músculos e sexos (Figuras 28 a 31).

Após 28 dias de estocagem, os bifes de machos inteiros, em ambos os músculos, apresentaram um aumento significativo nos valores de MFI, característico do processo proteolítico da carne. Alteração nos valores de MFI é um indicativo da degradação de proteínas na banda I do sarcômero (TAYLOR et al., 1995), região na qual a nebulina e titina, proteínas citoesqueléticas, são degradadas (BOYER-BERRI; GREASER, 1998). Bifes pertencentes ao músculo LT de machos inteiros embalados em ambientes anóxicos (vácuo, 0,2%CO e 0,4%CO) apresentaram os maiores valores de MFI ao longo do período de estocagem, observando-se uma maior fragilização das proteínas miofibrilares nos bifes embalados em atmosfera contendo 0,2%CO. Da mesma forma, bifes obtidos do músculo LL de bovinos machos inteiros e embalados nos ambientes anóxicos apresentaram os maiores valores de MFI. Para este músculo, maiores valores significantes foram observados nos bifes embalados nas atmosferas contendo CO aos 14, 21 e 28 dias de estocagem. Estes resultados sugerem que carne

embalada em ambientes anóxicos torna-se mais macia após estocagem, devido à ausência de O_2 (CLAUSEN et al., 2009). Por outro lado, bifes de machos inteiros embalados em alta concentração de O_2 (75%O_2) apresentaram menores valores de MFI quando comparados aos demais tipos de embalagem, porém, significâncias não foram detectadas aos 14 e 21 dias de estocagem para LT e aos 21 dias de estocagem para LL, quando comparados com os demais tipos de embalagem.

Semelhantemente, bifes obtidos do músculo LT de fêmeas de descarte e embalados em ambientes anóxicos (vácuo, 0,2%CO, 0,4%CO) apresentaram os maiores valores de MFI a partir dos 14 dias de estocagem, sem diferenças significativas detectadas entre si aos 14 e 28 dias, tornando-se mais macias ao longo do período de estocagem. Quanto aos bifes embalados em alta concentração de O_2 (75%O_2), menores valores de MFI foram observados quando comparados às demais atmosferas modificadas, porém aos 28 dias de armazenamento não se observou diferença estatística comparada às atmosferas com CO (0,2%CO e 0,4%CO). Da mesma forma, no músculo LL, os maiores valores de MFI de bifes de fêmeas foram encontrados em embalagens anóxicas em comparação à atmosfera com O_2 (75%O_2) aos 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem. No entanto, ao final do período de estocagem, esta última atmosfera não apresentou diferença estatística da embalagem a vácuo.

A presença de O_2 em embalagens de atmosferas modificadas está associada a um processo proteolítico reduzido na carne, devido à inativação das enzimas responsáveis pelo seu amaciamento (LUND et al., 2007ab; XIONG et al., 2009). Altas concentrações de O_2 promovem condições oxidativas adversas, afetando negativamente a taxa proteolítica da carne, o que traduz em uma menor maciez detectada através de análises de FC, MFI, e/ou atividade das calpaínas (LUND et al., 2007ab; ZAKRYS et al., 2008; CLAUSEN et al., 2009; LINDAHL et al., 2011). Corroborando com o presente estudo, Clausen et al. (2009) avaliando bifes de *Longissimus dorsi* de novilhas e fêmeas de descarte embalados em atmosferas contendo 50% a 80%O_2 durante 20 dias a 4 °C, revelaram que altas concentrações de O_2 influenciaram negativamente na maciez da carne.

Em relação aos músculos de machos inteiros, foram observados maiores valores de MFI ($p < 0,0001$) nos bifes obtidos de LT (média de 67,8) que nos bifes de LL (média

de 62,2), sugerindo que a parte torácica do músculo *Longissimus dorsi* em machos inteiros foi mais macia quando comparada com a região lombar. Por sua vez, músculos LT e LL de fêmeas de descarte apresentaram menores valores de MFI ($p < 0,0001$) nos bifes obtidos de LT (média de 72,5) que nos observados no músculo LL (média de 78,9), indicando que, contrariamente aos machos inteiros, a parte torácica do músculo *Longissimus dorsi* em fêmeas de descarte foi menos macia quando comparada com a região lombar, em concordância com estudo prévio realizado por Belew et al. (2003), atribuindo tal comportamento à maior uniformidade do músculo *Longissimus lumborum*, quando comparado ao LT. A variação da maciez observada nas diferentes porções do músculo *Longissimus dorsi* (LT e LL) pode ser atribuída à variabilidade no grau de contração muscular durante o desenvolvimento do *rigor mortis* em diferentes pontos do músculo (JANZ et al., 2006).

Quando comparados os sexos avaliados, os resultados obtidos para MFI sugerem que a carne originária de macho inteiro possui menor maciez quando comparada com a carne de fêmeas de descarte. Este comportamento pode estar associado a diversos fatores que incluem os diferentes níveis de hormônios sexuais, tipo biológico (raça e idade), quantidade de gordura e marmoreio, diâmetro das fibras musculares, entre outros (HEDRICK et al., 1994; JELENÍKOVÁ et al., 2008).

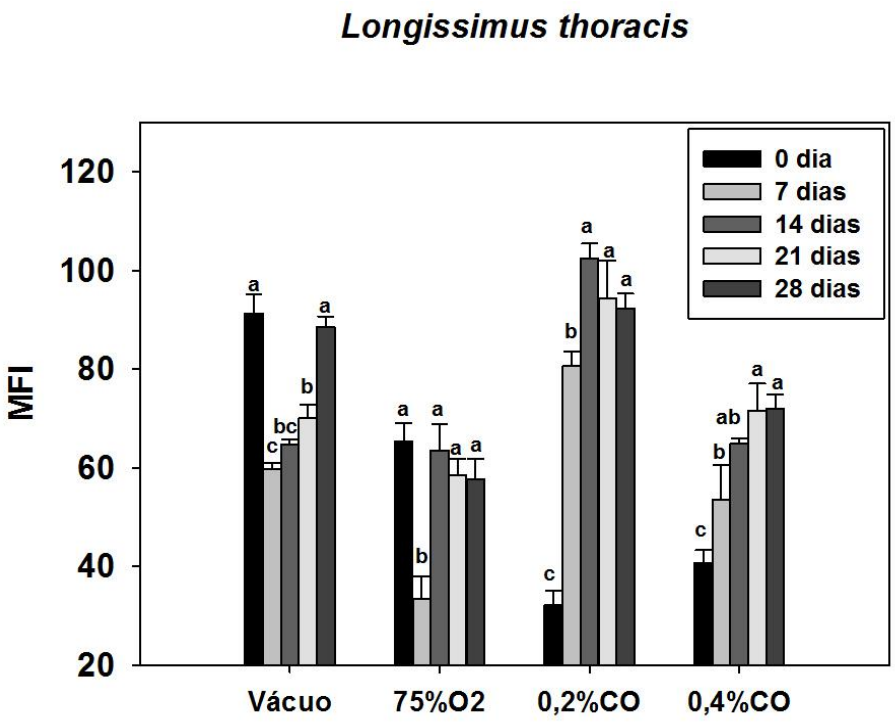

Figura 28 - Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

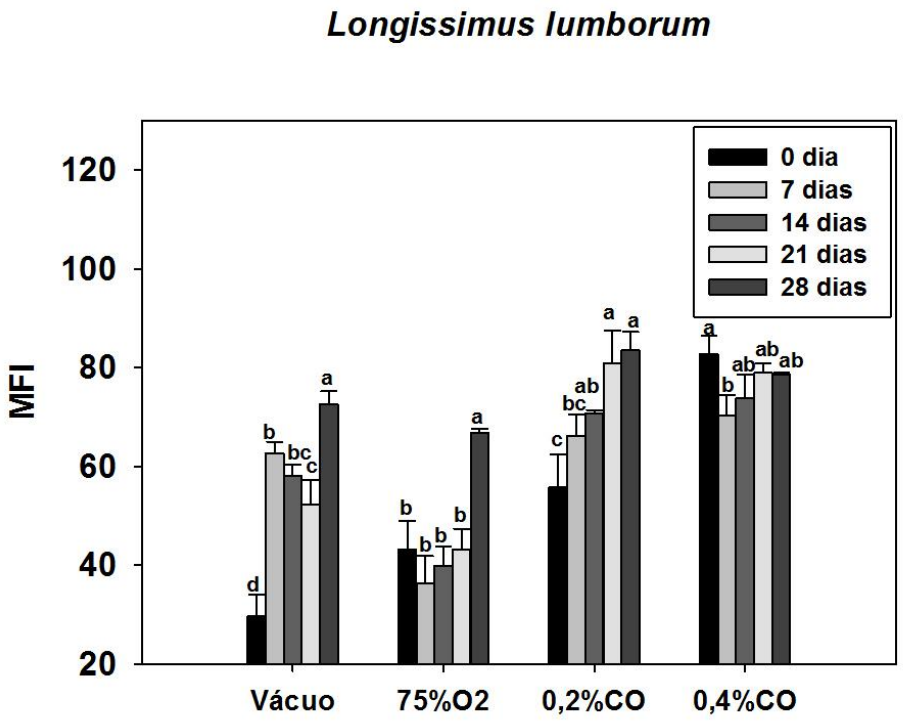

Figura 29 - Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

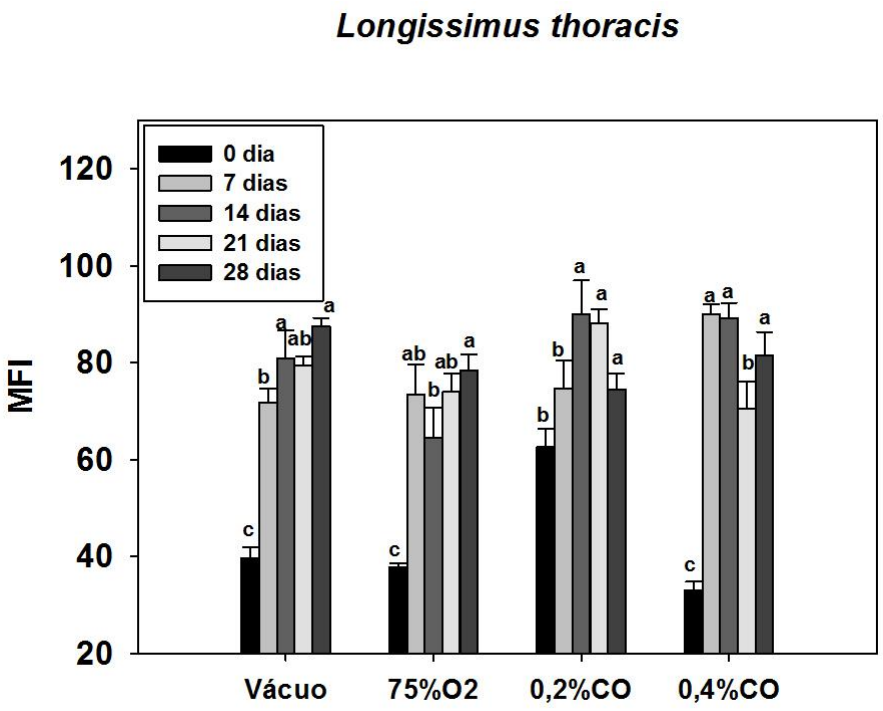

Figura 30 - Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

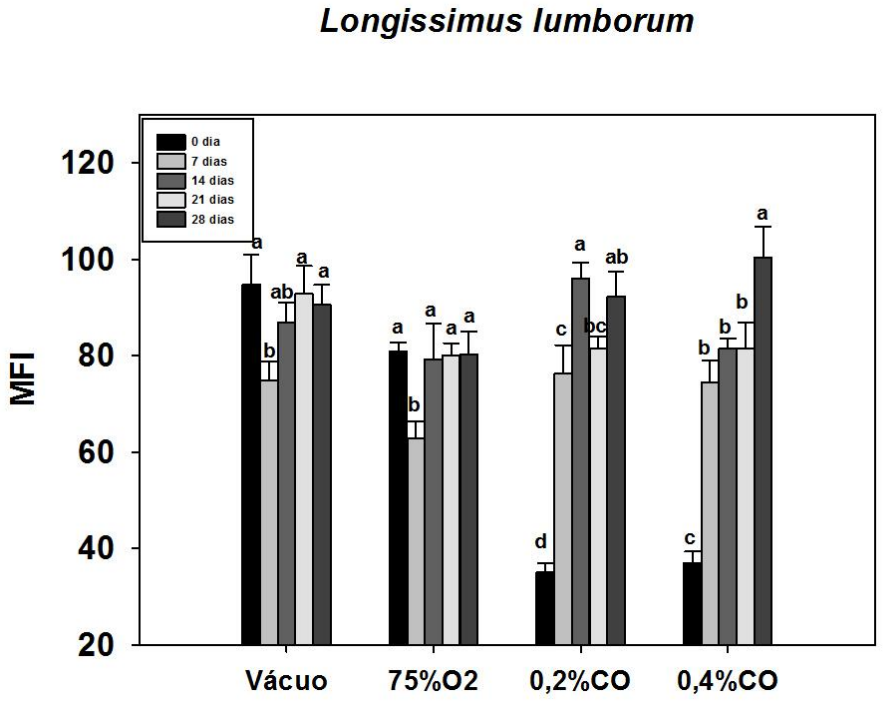

Figura 31 - Valores de MFI de bifes obtidos de músculos *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2ºC por 28 dias

Os resultados de MFI para machos inteiros e fêmeas de descarte foram fortemente correlacionados ($p < 0,0001$) com os valores de força de cisalhamento (FC) (Item 4.10, Tabela 24). Adicionalmente, o MFI de fêmeas de descarte foi correlacionado ($p < 0,01$) com a oxidação protéica dos bifes (Item 4.10, Tabela 25). Estudos prévios também identificaram fortes correlações inversas entre FC e MFI (WHIPPLE et al., 1990; KOOHMARAIE, 1996).

4.7 Colágeno total

Os valores de colágeno total (g/100g) dos bifes obtidos do músculo LT e LL de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte embalados nos diferentes ambientes por um período de 28 dias estão expressos nas Tabelas 18 e 19.

Tabela 18 – Valores de colágeno total (g/100g) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	2,80±0,18^{Aa}	2,86±0,42^{Aa}	2,53±0,40^{Aa}	2,46±0,36^{Aa}	2,33±0,06^{Aa}	2,60	2,86±0,32^{Aa}	2,63±0,22^{Aa}	2,50±0,36^{Aa}	2,33±0,45^{Aa}	2,16±0,28^{Aa}	2,50
75%O_2	2,86±0,03^{Aa}	2,73±0,33^{Aa}	2,46±0,34^{Aa}	2,43±0,36^{Aa}	2,33±0,20^{Aa}	2,56	2,86±0,25^{Aa}	2,63±0,38^{Aa}	2,30±0,21^{Aa}	2,26±0,50^{Aa}	2,10±0,27^{Aa}	2,43
0,2%CO	2,73±0,30^{Aa}	2,60±0,30^{Aa}	2,46±0,43^{Aa}	2,46±0,34^{Aa}	2,30±0,29^{Aa}	2,51	2,90±0,21^{Aa}	2,60±0,27^{Aa}	2,33±0,26^{Aa}	2,30±0,18^{Aa}	2,23±0,37^{Aa}	2,47
0,4%CO	2,90±0,09^{Aa}	2,60±0,30^{Aa}	2,36±0,29^{Aa}	2,30±0,29^{Aa}	2,53±0,27^{Aa}	2,54	2,76±0,41^{Aa}	2,43±0,31^{Aa}	2,26±0,25^{Aa}	2,20±0,30^{Aa}	2,13±0,22^{Aa}	2,36
Média	2,82	2,70	2,45	2,41	2,37	2,55	2,85	2,57	2,35	2,27	2,16	2,44

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: Não houve interações significativas

Tabela 19 – Valores de colágeno total (g/100g) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	2,74±0,45^{Aa}	2,88±0,10^{Aa}	2,48±0,18^{Aa}	2,36±0,25^{Aa}	2,24±0,21^{Aa}	2,54	2,74±0,38^{Aa}	2,42±0,23^{Aa}	2,50±0,37^{Aa}	2,47±0,36^{Aa}	2,07±0,02^{Aa}	2,44
75%O_2	2,59±0,30^{Aa}	2,58±0,25^{Aa}	2,59±0,30^{Aa}	2,34±0,18^{Aa}	2,25±0,19^{Aa}	2,47	2,71±0,37^{Aa}	2,50±0,31^{Aa}	2,38±0,37^{Aa}	2,49±0,34^{Aa}	2,21±0,18^{Aa}	2,46
0,2%CO	2,83±0,37^{Aa}	2,45±0,22^{Aa}	2,36±0,40^{Aa}	2,35±0,33^{Aa}	2,14±0,46^{Aa}	2,43	2,72±0,22^{Aa}	2,68±0,57^{Aa}	2,27±0,45^{Aa}	2,27±0,53^{Aa}	2,31±0,27^{Aa}	2,45
0,4%CO	2,60±0,25^{Aa}	2,41±0,32^{Aa}	2,10±0,16^{Aa}	2,11±0,43^{Aa}	2,08±0,36^{Aa}	2,26	2,66±0,32^{Aa}	2,41±0,46^{Aa}	2,25±0,52^{Aa}	2,04±0,40^{Aa}	1,90±0,12^{Aa}	2,25
Média	2,69	2,58	2,38	2,29	2,18	2,42	2,71	2,50	2,35	2,32	2,12	2,40

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: Não houve interações significativas

Não foram detectadas diferenças significativas ($p > 0,05$) ao longo do período experimental (28 dias) para os diferentes tipos de embalagem em ambos os músculos e sexos avaliados, como corroborado por estudos prévios (SILVA; PATARATA; MARTINS, 1999; PIERSON; FOX, 1976). No entanto, pode-se perceber que os bifes apresentou uma tendência a diminuir numericamente os valores de colágeno total, desde o início (dia 0) até o final do período experimental (28 dias), porém, significâncias não foram detectadas. Estes resultados sugerem que os diferentes tipos de embalagem e o período prolongado de estocagem não exercem influência sobre a quantidade de colágeno total dos bifes de ambos os músculo e sexos avaliados. Informações sugerem que o teor de colágeno total em bovinos não se modifica com a idade do animal, sexo ou período de maturação da carne, somadamente, diferentes sistemas de embalagem dificilmente irão exercer alguma influência sobre esta variável (PURSLOW, 2011 – comunicação pessoal)[1].

O teor de colágeno total para os bifes obtidos de machos inteiros variaram entre 2,30 e 2,90 g/100g de carne (com base na matéria seca) para o músculo LT e entre 2,10 e 2,90 g/100g de carne (com base na matéria seca) para o músculo LL. Por outro lado, bifes obtidos de fêmeas de descarte apresentaram valores de colágeno total variando entre 2,08 e 2,88 g/100g de carne (com base na matéria seca) para o músculo LT e 1,90 a 2,74 g/100g de carne (com base na matéria seca) para o músculo LL. Valores de colágeno total variando entre 1,8 a 3,0 g/100g de carne (com base na matéria seca) foram encontrados em músculos LT e LL bovinos (BENDALL, 1967; DRANSFIELD, 1977; RHEE et al., 2004), e as variações estão associadas ao uso de animais de diferentes raças, idade; conformação de carcaça, região de amostragem, congelamento e descongelamento da amostra, subestimação do teor de hidroxiprolina e/ou superestimação do colágeno em amostras preparadas com metodologias distintas. Na maioria destes trabalhos não há informação sobre a região do músculo onde a amostragem foi realizada (TORRESCANO et al., 2003).

---

[1] Informação fornecida por PURSLOW, P. P. na Palestra Connective tissue structure and turnover in muscle: relevance to meat quality, em 09/02/2011

Em relação às localizações do músculo, não houve diferença estatística entre os valores de colágeno total para os bifes de LT e LL de machos inteiros e fêmeas de descarte, embora numericamente, os valores de colágeno total das amostras de LT tenderam a ser ligeiramente maiores (2,55 e 2,42 g/100g, respectivamente) quando comparados às amostras de LL (2,43 e 2,40 g/100g, respectivamente). Neste sentido, Rhee et al., (2004) não encontraram diferenças significantes nos valores de colágeno total entre LT e LL de bovinos, porém, maiores valores numéricos foram observados no músculo LL. Contrariando os resultados observados neste estudo, Torrescano et al. (2003) encontraram diferença significativa entre os valores de colágeno total do músculo LT e LL de bovinos machos inteiros, sendo o LL com o maior conteúdo de colágeno total.

A distribuição dos valores de colágeno total dos diferentes tipos de embalagem por sexo ao longo do período experimental para ambos os músculos são apresentados na Figuras 32 e 33. Dos resultados, observa-se a tendência diminutiva dos valores de colágeno total ao longo do período experimental para ambos os sexos e músculo avaliados, bem como a ampla variabilidade dos valores obtidos. A maturação dos bifes por um período prolongado (28 dias) pode ter favorecido o enfraquecimento do tecido conjuntivo, pela ação das catepsinas, e solubilização do colágeno durante a estocagem (TORRESCANO et al., 2003; JANZ et al., 2006), dando a falsa impressão que o teor de colágeno total diminuiu ao longo do período experimental.

Para os resultados de colágeno total de bifes de machos inteiros e fêmeas de descarte foram observadas correlações ($p < 0,0001$) com os valores de força de cisalhamento (FC) e índice de fragmentação miofibrilar (MFI) (Item 4.10, Tabela 25). Estudos prévios também identificaram fortes correlações inversas entre FC e MFI (BAILEY, 1989), porém controvérsias são encontradas na literatura que não definem correlações entre estas variáveis (AVERY et al., 1996; 1998; SILVA; PATARATA; MARTINS, 1999).

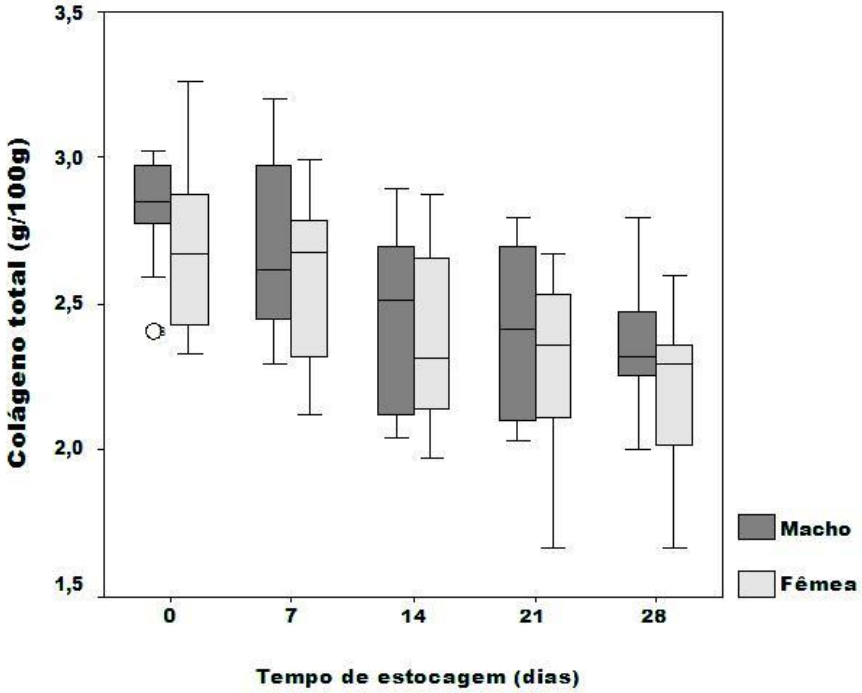

Figura 32 – Distribuição dos valores de colágeno total (g/100g) de bifes obtidos do músculo *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte durante estocagem a 2ºC por 28 dias

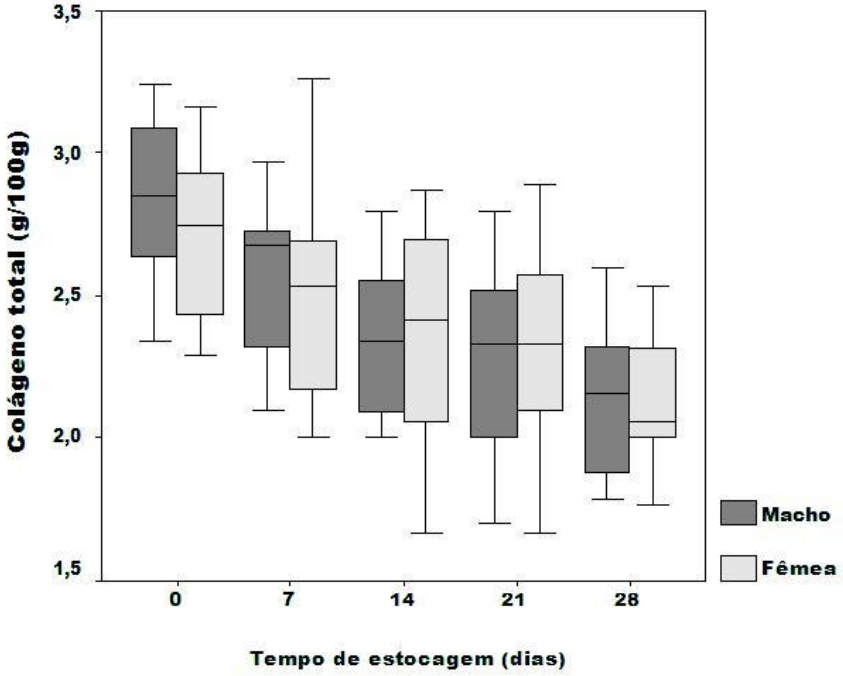

Figura 33 – Distribuição dos valores de colágeno total (g/100g) de bifes obtidos do músculo *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte durante estocagem a 2ºC por 28 dias

4.8 Perda de peso por cocção (PPC)

Os valores de perda de peso por cocção (PPC) dos bifes obtidos dos músculos LT e LL de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte, embalados em diferentes sistemas de embalagens por 28 dias a 2 °C estão apresentadas nas Tabelas 20 e 21.

Os valores de PPC dos bifes de machos inteiros embalados nos diferentes tipos de embalagem aumentaram ao longo do período experimental para ambos os músculos (LT e LL), atingindo média geral acima de 28%. Perdas de peso relativamente menores, na faixa de 22,76% a 27,75% foram relatadas por Butchers et al., (1998) quando aplicando o método de cocção em banho-maria e menor temperatura interna (70 °C). A alta perda de peso após cozimento observada no presente estudo pode estar relacionada ao método de cozimento empregado. A utilização de chapa elétrica para a cocção dos bifes pode ter sido drástica, levando também a maiores perdas por evaporação. Maiores temperaturas de cocção favorecem maiores perdas de peso após cozimento (PURCHAS; BURNHAM; MORRIS, 2002). Aplicando o mesmo método utilizado nesta pesquisa, Cardoso (2005), observou valores de PPC variando 29,4% aos 2 dias e 28,79% aos 14 dias de maturação.

Bifes do músculo LT originário de machos inteiros e pertencentes à embalagem a vácuo apresentaram PPC de 19,5% no dia do processamento (dia 0), diferenciando-se das atmosferas 0,2%CO e 0,4%CO. Provavelmente este baixo valor de PPC se deve ao maior valor de pH destes bifes (6,3). Estudos indicam que carne do tipo DFD (pH > 6,2), apresentam proteínas musculares com maior capacidade em reter água no interior da células. Como conseqüência, a superfície do corte fica escurecida e sem umidade superficial, incidindo em menor liberação de água na cocção dos bifes (LAWRIE; LEDWARD, 2006).

Tabela 20 – Valores de PPC (%) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	19,5±0,9^{Bb}	32,6±1,6^{Aa}	26,8±4,2^{Aab}	29,9±2,3^{Aa}	28,7±0,7^{Ab}	27,5	30,0±0,0^{Aa}	29,5±1,5^{Aa}	31,4±2,3^{Aab}	34,2±0,7^{Aa}	33,1±3,6^{Aa}	31,6
75%O_2	24,9±3,4^{Bab}	27,9±4,1^{ABa}	31,8±4,3^{ABa}	31,4±2,9^{ABa}	36,1±1,5^{Aa}	30,4	25,4±3,5^{Ba}	27,9±1,3^{ABa}	35,2±3,7^{Aa}	28,4±3,3^{ABa}	28,8±4,6^{ABa}	29,1
0,2%CO	29,1±0,9^{Aa}	26,7±3,9^{ABa}	21,6±2,2^{ABb}	21,2±0,6^{Bb}	27,6±3,9^{ABb}	25,2	23,1±3,0^{Aa}	30,3±1,8^{Aa}	28,0±0,2^{Aab}	29,9±3,5^{Aa}	30,4±3,7^{Aa}	28,3
0,4%CO	27,3±4,3^{Aa}	31,1±4,7^{Aa}	25,2±1,6^{Aab}	32,1±3,0^{Aa}	30,7±3,4^{Aab}	29,3	25,3±4,4^{Aa}	26,3±4,5^{Aa}	26,7±4,0^{Ab}	32,3±0,7^{Aa}	30,2±3,9^{Aa}	28,2
Média	25,2	29,6	26,4	28,7	30,8	28,1	26,0	28,5	30,3	31,2	30,6	29,3

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-B] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-b] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: T: $p<0,0001$; E x T: $p<0,05$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem

Tabela 21 – Valores de PPC (%) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	26,5±2,5^{Aa}	28,2±0,2^{Aa}	30,1±0,8^{Aa}	28,7±4,9^{Aa}	32,6±0,5^{Aab}	29,2	26,1±2,2^{Ba}	28,5±2,1^{ABa}	28,0±0,8^{ABb}	31,8±2,6^{ABa}	34,3±4,0^{Aa}	29,7
75%O_2	23,7±2,1^{Ba}	23,1±0,54^{Ba}	28,1±0,6^{ABa}	32,2±1,9^{Aa}	29,5±3,0^{Aab}	27,3	23,2±1,3^{Ba}	32,3±1,6^{Aa}	28,3±0,7^{ABb}	30,3±1,2^{Aa}	29,7±4,4^{Aab}	28,8
0,2%CO	25,7±1,9^{Aa}	28,5±3,2^{Aa}	29,3±1,1^{Aa}	27,5±1,2^{Aa}	29,0±2,9^{Ab}	28,0	29,7±3,8^{ABa}	30,7±1,1^{Aa}	23,5±2,1^{Bc}	29,7±1,1^{ABa}	25,2±3,1^{ABb}	27,8
0,4%CO	24,4±2,7^{Ba}	27,3±3,5^{Ba}	25,3±3,4^{Ba}	31,5±2,2^{ABa}	35,1±1,8^{Aa}	28,7	27,3±3,1^{ABa}	30,8±2,7^{Aa}	33,0±2,1^{Aa}	31,4±1,0^{Aa}	24,0±0,7^{Bb}	
Média	25,1	26,8	28,2	30,0	31,6	28,3	26,6	30,6	28,2	30,8	28,3	28,9

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-B] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-b] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: T: $p<0,0001$; ExTxM: $p<0,01$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Músculo

Bifes do músculo LT embalados na atmosfera 0,2%CO apresentaram os menores valores numéricos de PPC a partir dos sete dias de estocagem, com e sem significâncias detectadas, quando comparados com os demais tipos de embalagens para cada período avaliado. Os bifes de LT embalados na atmosfera 75%O2 apresentou a maior média para PPC ao final do período experimental (28 dias). Para os bifes do músculo LL de machos inteiros, as atmosferas não se diferenciaram durante o período experimental, com exceção do 14º dia de armazenamento, onde a atmosfera 75%O2 apresentou o maior valor de PPC (35,2%), diferenciando-se da atmosfera 0,4%CO (26,7%).

Similarmente aos bifes de bovinos machos inteiros, bifes de fêmeas de descarte embalados nos diferentes tipos de embalagem apresentaram um incremento nos valores de PPC (%) ao longo do período de estocagem, exceto bifes do músculo LL embalado em atmosferas com CO (0,2%CO e 0,4%CO), com média geral também acima de 28%, para ambos os músculos. Dos resultados, observa-se, um comportamento instável nos valores de PPC para os bifes de ambos os músculos de animais fêmeas, embalados nos diferentes tipos de embalagem. No final do período experimental (28 dias), os bifes obtidos do músculo LT de fêmeas, apresentaram maior valor de PPC (35,1%) na atmosfera com 0,4%CO, porém não diferindo do vácuo (32,6%) e da atmosfera com 75% de O_2 (29,5%). Por sua vez, bifes de LL de fêmeas embalados a vácuo, apresentaram os maiores valores de PPC (34,3%), diferindo-se das atmosferas com CO (0,2%CO e 0,4%CO), mas não da atmosfera com O_2 (75%O_2).

A tendência ao aumento nos valores de PPC para ambos os músculos e sexos no final do período experimental, pode ser resultado do aumento na desnaturação da miosina ou ao enfraquecimento das miofibrilas decorrente da degradação protéica (SRINIVASAN; XIONG; DECKER, 1997; XIA et al., 2009). Esta proteólise promove baixa retenção de água, levando à progressiva perda de peso durante a estocagem e após cozimento (NISHI, 2008; BARACAT, 2006). Embora não houve interferência clara entre os tipos de embalagem avaliados sobre os valores de PPC, inconstantes aumentos foram observados nos bifes embalados a vácuo, principalmente quando referido ao músculo LL em comparação com as atmosferas modificadas (Figuras 34 e 35). Esta maior perda de água pode ter sido favorecida pela pressão da embalagem

exercida sobre a carne, o que aumenta as perdas por exsudação após o tratamento térmico (SØRHEIN; OFSTAD; LEA, 2004). Estudos indicam que o tipo de composição gasosa utilizada na embalagem com atmosfera modificada não interfere na PPC (JEREMIAH; GIBSON; ARGANOSA, 1996; HOLLEY et al., 1994), porém, autores relatam que aumento nos valores de PPC pode ser atribuído à presença do gás CO_2 em um ambiente de atmosfera modificada, tanto aeróbio quanto anaeróbio, sendo necessários somente 20% de CO_2 para interferir na PPC de hambúrgueres ou bifes bovinos sob atmosferas modificadas (SØRHEIN; OFSTAD; LEA, 2004; CLAUSEN et al., 2009). O gás CO_2 favorece o aparecimento de fissuras na carne no momento do cozimento, devido à rápida liberação da carne para a atmosfera, resultando em altos valores de PPC e impactos negativos na propriedade funcional da carne (CLAUSEN et al., 2009; SØRHEIN; OFSTAD; LEA, 2004; JAKOBSEN; BERTELSEN, 2002).

Estudos indicam que o tipo de composição gasosa utilizada na embalagem com atmosfera modificada não interfere na PPC, porém, autores relatam que aumento nos valores de PPC pode ser atribuído à presença do gás CO_2 em um ambiente de atmosfera modificada, tanto aeróbio quanto anaeróbio, sendo necessários somente 20% de CO_2 para interferir na PPC de hambúrgueres ou bifes bovinos sob atmosferas modificadas (SØRHEIN; OFSTAD e LEA, 2004; CLAUSEN et al., 2009). Em bifes, o gás CO_2 favorece o aparecimento de fissuras na carne no momento do cozimento, resultando em altos valores de PPC (CLAUSEN et al., 2009).

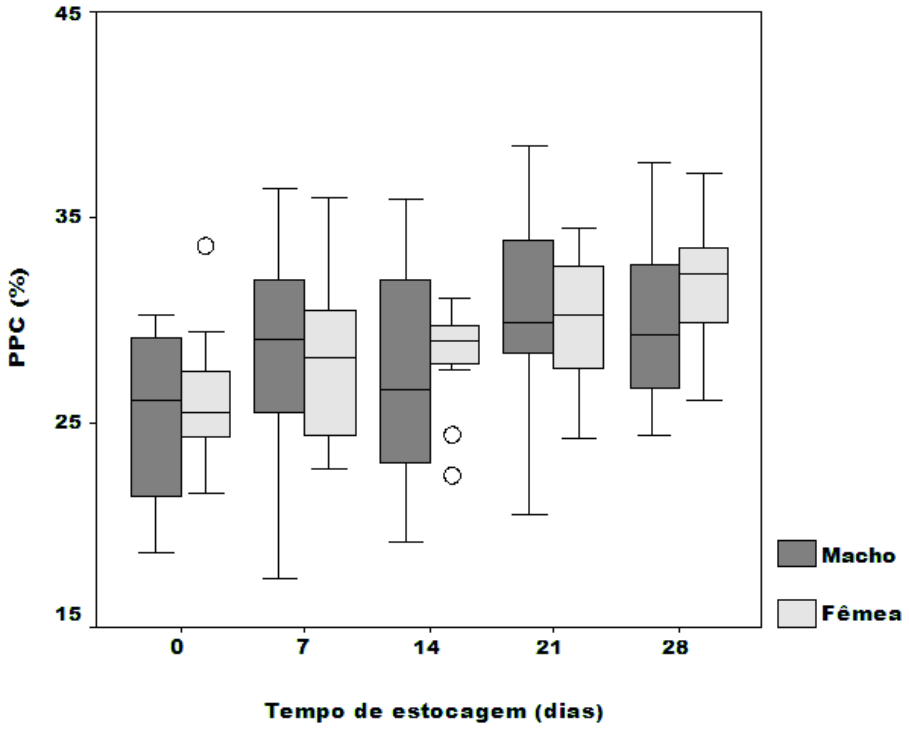

Figura 34 – Distribuição dos valores de PPC (%) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte durante estocagem a 2ºC por 28 dias

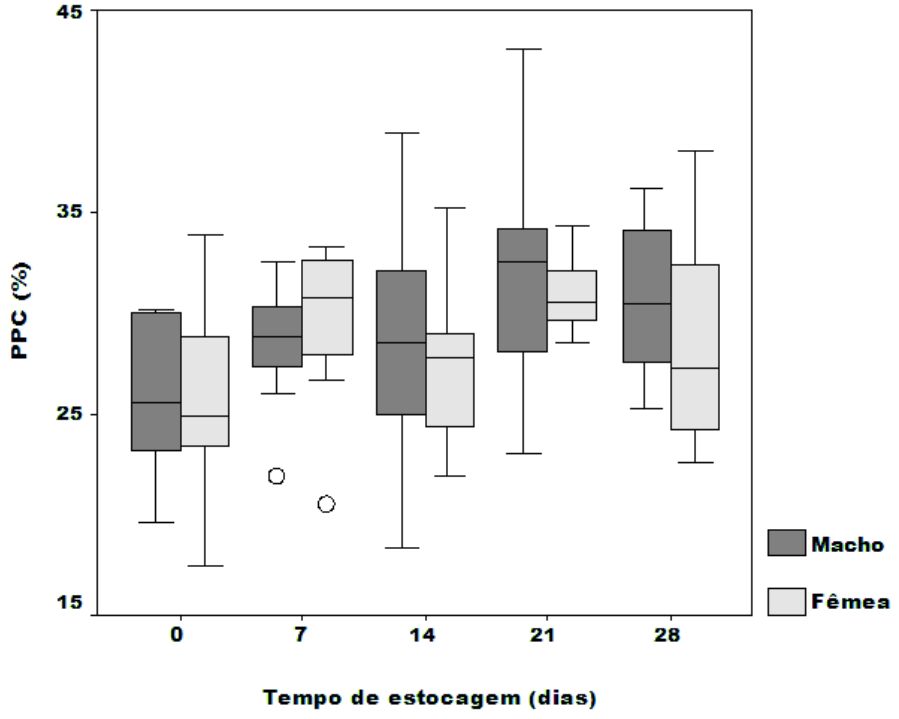

Figura 35 - Distribuição dos valores de PPC (%) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte durante estocagem a 2ºC por 28 dias

Avaliando as localizações do músculo *Longissimus dorsi*, observa-se que os bifes obtidos de LL de machos inteiros apresentaram maiores valores de PPC (média de 29,3%) quando comparado aos bifes obtidos de LT (média de 28,1%), apesar de não apresentarem diferença estatística ($p > 0,05$). Por sua vez, os valores de PPC não diferiram em fêmeas de descarte, onde os músculos LT e LL apresentaram médias gerais de 28,3% e 28,8%, respectivamente. Resultados observados por Rhee et al. (2004) e Smith et al. (1969) encontraram valores mais altos para PPC na região caudal do músculo *L. dorsi* de bovinos.

Os resultados de PPC de animais machos inteiros foram correlacionados com os valores de pH ($p < 0,01$) e FC ($p < 0,0001$) (Item 4.10, Tabela 24). Estudos prévios também observaram correlações entre estas variáveis (SILVA; PATARATA; MARTINS, 1999; HUFF-LONERGAN et al., 2002). No entanto, nenhuma correlação com o pH e FC foi observada para os resultados de PPC de bifes de fêmeas de descarte.

4.9 Força de Cisalhamento (FC)

Os valores de força de cisalhamento (FC) de bifes obtidos de músculos LT e LL de bovinos machos inteiros e fêmeas de descarte embalados em diferentes sistemas de embalagens por um período de 28 dias estão expressos nas Tabelas 22 e 23.

Tabela 22 – Valores de FC (kgf) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	4,4±0,35^{Ab}	7,0±2,74^{Aa}	6,0±1,40^{Aa}	5,7±1,41^{Aa}	4,3±0,39^{Ab}	5,5	4,4±0,35^{Ab}	7,0±2,74^{Aa}	6,0±1,40^{Aa}	5,7±1,41^{Aa}	4,3±0,39^{Ab}	7,4
75%O_2	7,0±2,79^{Aab}	8,9±0,63^{Aa}	6,9±0,47^{Aa}	7,1±0,92^{Aa}	7,1±0,77^{Aa}	7,4	7,0±2,79^{Aab}	8,9±0,63^{Aa}	6,9±0,47^{Aa}	7,1±0,92^{Aa}	7,1±0,77^{Aa}	7,9
0,2%CO	9,1±0,21^{Aa}	4,9±2,16^{Ba}	3,3±0,40^{Ba}	4,4±0,64^{Ba}	4,2±0,67^{Bb}	5,2	9,1±0,21^{Aa}	4,9±2,16^{Ba}	3,3±0,40^{Ba}	4,4±0,64^{Ba}	4,2±0,67^{Bb}	6,0
0,4%CO	8,3±0,18^{Aa}	7,6±2,63^{Aa}	6,6±2,44^{Aa}	6,8±2,01^{Aa}	5,7±1,39^{Aab}	7,0	8,3±0,18^{Aa}	7,6±2,63^{Aa}	6,6±2,44^{Aa}	6,8±2,01^{Aa}	5,7±1,39^{Aab}	5,3
Média	7,2	7,1	5,7	6,0	5,3	6,3	7,6	7,1	6,9	6,4	5,5	6,7

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-B] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-b] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: E, T: $p<0,0001$; ExT: $p<0,01$; ExM= $p<0,0001$; ExTxM= $p<0,05$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Músculo

Tabela 23 – Valores de FC (kgf) de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

Embalagem[1]	*Longissimus thoracis*						*Longissimus lumborum*					
	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média	0 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Média
Vácuo	8,3±0,11^{Aa}	5,5±0,67^{Ba}	5,3±1,06^{Ba}	5,3±0,49^{Ba}	4,5±0,59^{Ba}	5,8	4,1±0,42^{Cb}	5,7±0,24^{Aa}	5,1±0,52^{ABa}	4,6±0,21^{BCa}	4,5±0,11^{BCa}	4,8
75%O_2	8,8±0,78^{Aa}	5,2±1,18^{Ba}	6,6±1,84^{ABa}	5,9±0,72^{ABa}	5,2±0,20^{Ba}	6,3	4,9±2,15^{Ab}	6,5±0,58^{Aa}	5,2±0,39^{Aa}	5,7±0,87^{Aa}	5,1±0,74^{Aa}	5,5
0,2%CO	6,9±0,33^{Ab}	5,3±1,40^{Aa}	4,9±0,49^{Aa}	4,7±0,75^{Aa}	5,3±1,24^{Aa}	5,4	8,6±1,24^{Aa}	5,3±2,00^{ABa}	4,0±0,43^{Ba}	5,6±1,16^{ABa}	4,5±1,31^{Ba}	5,6
0,4%CO	8,9±0,11^{Aa}	4,4±1,15^{Ba}	4,8±1,25^{Ba}	6,7±1,06^{ABa}	5,2±1,77^{Ba}	6,0	8,3±0,72^{Aa}	5,8±0,70^{Ba}	5,0±1,29^{Ba}	5,3±0,65^{Ba}	3,9±0,87^{Ba}	5,7
Média	8,2	5,1	5,4	5,7	5,1	5,9	6,5	5,8	4,8	5,3	4,5	5,4

[1] Embalagem: Vácuo; 75%O_2 (75%O_2/25%CO_2); 0,2%CO (60%CO_2/0,2%CO/39,8%N_2); 0,4%CO (40%CO_2/0,4%CO/39,6%N_2)
[A-B] Valores na linha seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente dentro de cada músculo ($p < 0,05$)
[a-b] Valores na coluna seguidos de diferentes letras subscritas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)
Significâncias determinadas nos fatores e/ou suas interações: T: $p<0,0001$; M: $p<0,01$; ExT: $p<0,05$; TxM; ExTxM= $p<0,001$, onde E: Embalagem, T: Tempo de estocagem, M: Músculo

Devido à ampla variabilidade dos bovinos machos inteiros utilizados neste estudo, diferenças significativas ($p < 0,05$) foram encontradas no dia do processamento (dia 0) nos bifes embalados a vácuo (4,4 kgf) pertencente ao músculo LT e em atmosfera com 0,4% CO (4,8 kgf) oriunda do músculo LL, quando comparados com as demais embalagens. A relação entre pH final e maciez da carne é contraditória, porém um incremento na maciez é observada quando o pH é superior a 6,2, devido à maior expressão na atividade das enzimas proteolíticas em pH próximo ao neutro (JELENÍKOVÁ; PIPEK; STARUCH, 2008; DRANSFIELD, 1981; BOUTON et al., 1973). Desta forma, foi observado que os resultados de FC de animais machos inteiros apresentaram forte correlação ($p < 0,0001$) com os valores de pH (Item 4.10, Tabela 20).

Em machos inteiros, houve incidência diminutiva ($p < 0,05$) nos valores de FC dos bifes embalados nos diferentes tipos de embalagem ao longo do período experimental para ambos os músculos (Tabela 18), indicando o processo de amaciamento natural da carne. (SHANKS; WULF; MADDOCK, 2002; LAGERSTEDT; LUNDSTRÖM; LINDAHL, 2011).

Bifes obtidos dos músculos LT e LL de machos inteiros, embalados em atmosfera contendo 75% de O_2 apresentaram maiores valores de FC a partir do 7º dia de estocagem. Porém, após 28 dias de estocagem, diferenças estatísticas foram observadas no músculo LT, mas não no músculo LL. Estes resultados podem estar associados à alta concentração de oxigênio da atmosfera (75%O_2).

Da mesma forma que observado em bovinos machos inteiros, bifes de fêmeas de descarte embalados sob os diferentes tipos de embalagem, foram beneficiados pela maturação prolongada (28 dias), que agiu de forma favorável na maciez da carne, diminuindo consideravelmente os valores de FC (Tabela 19).

Devido à ampla variabilidade dos animais fêmeas utilizados neste estudo, diferenças significativas ($p < 0,05$) foram encontradas nos valores de FC no dia do processamento (dia 0) nas embalagens 0,2%CO (6,9 kgf) para o músculo *Longissimus thoracis* (LT) e vácuo (4,1 kgf) e 75%O_2 (4,9 kgf) para o *Longissimus lumborum* (LL), quando comparados com os demais tratamentos estudados em cada músculo. No entanto, os tipos de embalagem não apresentaram diferença estatística entre si a partir

do 7º dia de estocagem, quando atingiram valores de maciez aceitáveis para bovinos *Bos indicus* (JOHNSON et al., 1990; WHEELER; CUNDIF; KOCH, 1994; KOOHMARAIE, 1995). Nos bifes obtidos de fêmeas, observou-se um amaciamento acelerado e gradual da carne em todos os tratamentos a partir dos sete dias de estocagem, como observado previamente em estudos como animais deste sexo (THERKILDSEN; STOLZENBACH; BYRNE, 2011; CLAUSEN et al., 2009; STELZLENI; JOHNSON; THRIFT, 2008). No entanto, observa-se valores maiores numéricos de FC na atmosfera contendo 75% de O_2 ao longo do período experimental, quando comparado aos outros tipos de embalagem nas amostras pertencentes a ambos os músculos, porém, diferencas significativas nao foram detectadas.

Pesquisas sugerem que o O_2 favorece a oxidação das proteases responsáveis pelo amaciamento natural da carne (LUND et al., 2007a; CLAUSEN et al., 2009), conseqüentemente menores valores de maciez foram observados no presente estudo nas amostras de ambos os músculos e sexos embaladas em atmosferas contendo O_2. Corroborando com este estudo, Zakrys et al. (2008) avaliando bifes de *Longissimus dorsi* originários de bovinos fêmeas em atmosferas contendo diferentes concentrações de O_2 (de 10% a 80%), estocados por 15 dias a 4 °C, observaram menor maciez da carne conforme aumentam as concentrações de O_2. Da mesma forma, em estudo recente realizado por Lagerstedt; Lundström e Lindahl (2011), a maciez e suculência de bifes de bovinos machos inteiros foram negativamente influenciados pela mistura sob alta concentração de O_2 (80%O_2/20%CO_2), quando comparados com bifes embalados a vácuo por um período de 10 a 15 dias.

Em relação às localizações do músculo *Longissimus dorsi* (LT e LL*)*, não houve diferença estatística entre os valores de FC para os bifes de LT e LL de machos inteiros, embora numericamente, os valores de FC das amostras de LT (6,4 kgf) tenderam a ser ligeiramente menores quando comparados às amostras de LL (6,7 kgf). Contrariamente, em fêmeas de descarte, os bifes obtidos de LT apresentaram maiores valores de FC (5,9 kgf) quando comparados aos bifes obtidos de LL (5,4 kgf), se diferenciando estatisticamente ($p < 0,01$). Este resultado indica que o músculo LL é relativamente mais macio do que o LT para bifes de fêmeas de descarte. Estudos sugerem que a porção posterior do músculo *Longissimus dorsi* referente ao LL são mais

macios que a porção anterior referente ao LT (LINDAHL et al., 2010; HANSEN et al., 2004; SPANIER; BERRY; SOLOMON, 2000; DUGAN; AALHUS, 1998). Por outro lado, Rhee et al., 2004 não encontraram efeito das localizações do músculo *Longissimus dorsi* para valores de FC de bifes de bovinos. Janz et al. (2006) e Wheeler; Shackelford e Koohmaraie (2007) observaram menor valor de FC em bifes pertencentes às extremidades cranial e caudal deste mesmo músculo, quando comparados aos bifes da porção medial. Diferenças nos valores de FC e possíveis causas da variação intramuscular de diferentes porções do músculo *Longissimus dorsi* (LT e LL) podem ser atribuídas ao método de pendura e resfriamento das carcaças, ao diâmetro da fibra muscular, ao tipo de fibra metabólica e conteúdo do tecido conjuntivo (GARIÉPY et al. 1990).

Diferentemente dos bovinos machos inteiros, a correlação entre os valores de FC e pH, não foram claramente detectados em bifes de fêmeas de descarte (Item 2.4.5, Tabela 20). Este fenômeno pode ter sido favorecido pelos valores de pH normal a intermediários observados em fêmeas (próximos a 5,8) que podem resultar em valores de FC amplamente variáveis (LOWE et al., 2004).

Nas Figuras 36 e 37, é ilustrada a distribuição dos valores de FC dos bifes de machos inteiros e fêmeas de descarte estocados nos diferentes sistemas de embalagem, em ambos os músculos por 28 dias. Dos resultados obtidos, pode-se observar a incidência da atmosfera contendo 75% O_2 sobre os maiores valores de FC para cada músculo e sexo, bem como a ampla variabilidade dos valores obtidos.

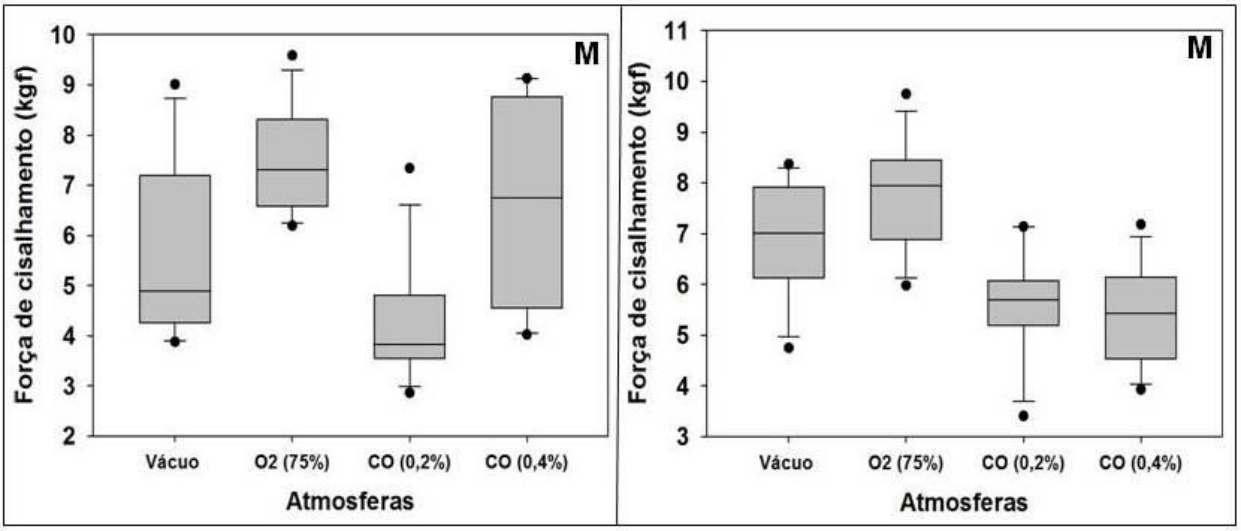

Figura 36 – Distribuição dos valores de FC (kgf) de bifes obtidos dos músculos *Longissimus thoracis* (esquerda) e *Longissimus lumborum* (direita) de bovinos machos inteiros para os diferentes tipos de embalagem

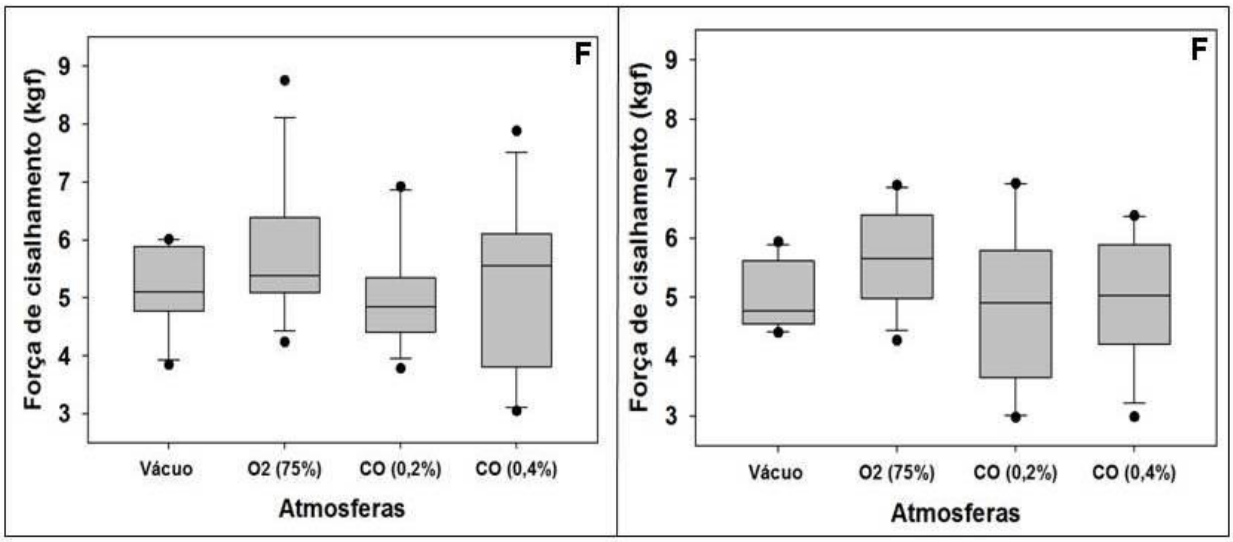

Figura 37 – Distribuição dos valores de FC (kgf) de bifes obtidos dos músculos *Longissimus thoracis* (esquerda) e *Longissimus lumborum* (direita) de bovinos fêmeas de descarte para os diferentes tipos de embalagem

Pelos resultados observados, sugere-se que a carne proveniente de macho inteiro possui menor maciez quando comparada com a carne de fêmeas de descarte. Este efeito pode estar associado aos diferentes níveis de hormônios sexuais, ao tipo biológico (raça e idade), quantidade de gordura e marmoreio, manejo pré e pós-abate, diâmetro de fibras musculares, entre outros fatores, como previamente referenciado (CHURCH; WOOD, 1992; HEDRICK et al., 1994; JELENÍKOVÁ; PIPEK; STARUCH,

2008). Bovinos machos inteiros tendem a apresentar uma maior dureza da carne, devido a uma maior insolubilidade do colágeno, principalmente com o avanço da maturidade, em comparação com bovinos fêmeas de descarte (SEIDEMAN et al., 1982; CROSS, SCHANBACHER; CROUSE, 1984).

Excetuando a carne embalada em atmosferas contendo O_2 (75%O_2) para os músculos LT e LL de machos inteiros, os resultados deste experimento indicam que em geral, carnes de machos inteiros e fêmeas de descarte, após um período de maturação de 28 dias, podem ser classificadas em um limiar de carne ligeiramente macia para os diferentes tipos de embalagem utilizados. Segundo a literatura, o limiar de valores médios de força de cisalhamento entre duro e macio para animais *Bos indicus* está na faixa de 5,0 a 6,0 (McKEITH et al., 1985; JOHNSON et al., 1990; WHEELER; CUNDIF; KOCH, 1994; KOOHMARAIE, 1995).

4.10 Relações entre os parâmetros de qualidade de carne

As correlações entre os diferentes parâmetros de qualidade de carne avaliados são apresentados para machos inteiros e fêmeas de descarte nas Tabelas 24 e 25, respectivamente. Os parâmetros de cor instrumental foram moderado e fortemente correlacionados significativamente ($p < 0,0001$), o aumento da luminosidade da carne *in natura* (L*) foi correlacionado diretamente com aumento na sua coloração vermelha (C*) para bifes obtidos de ambos os sexos ($r = 0,839$; 0,715).

Dos resultados observa-se a associação dos valores de pH e os parâmetros de maciez (MFI e FC) para carne originária de bovinos machos inteiros ($p < 0,01$), porém a associação somente foi observado para a variável MFI na carne de fêmeas de descarte ($p < 0,05$), suportando a teoria previamente discutida sobre a influencia do pH sobre a maciez de carne. Em fêmeas de descarte, os menores valores de pH foram inversamente correlacionados com o aumento do MFI, confirmando a hipótese de uma menor suscetibilidade ao estresse pré-abate destes animais que favorece a adequada transformação do músculo em carne (LAWRIE; LEDWARD, 2006). Contrariamente, em machos inteiros, os altos valores de pH observados neste estudo, foram diretamente correlacionados com o aumento de MFI, sugerindo maior atividade de enzimas proteolíticas em pH próximo à neutralidade que promovem a maciez da carne

(JELENÍKOVÁ; PIPEK; STARUCH, 2008). A correlação inversa entre pH e FC de machos inteiros foi observada por estudos prévios (SANZ et al., 1996; RESTLE et al., 1996).

A estabilidade oxidativa, protéica e lipídica, apresentou uma correlação inversa significativa entre os valores de tióis livres e TBARS ($p < 0,01$) na carne de fêmeas de descarte, indicando a oxidação da carne pelos efeitos dos diferentes sistemas de embalagem e do período de maturação. No mesmo sentido, estudos prévios relataram correlações significativas entre a estabilidade oxidativa protéica e lipídica (ZAKRYS et al., 2008; ESTEVEZ; CAVA, 2004; MERCIER et al., 2004). Por sua vez, em carne de machos inteiros não foi observado associação entre estes parâmetros, fenômeno possivelmente atribuído às diferenças entre a composição da carne de ambos os sexos, característica por um menor acúmulo de gordura em machos, quando comparado com fêmeas. Da mesma forma, podem ser atribuídos diferentes mecanismos que regem a estabilidade oxidativa tanto lipídica quanto protéica em carnes de machos inteiros estocadas sobre os sistemas de embalagens (LUND; HVIID; SKIBSTED, 2007b).

No atual estudo não foi observado influência clara dos sistemas de embalagem utilizados nos valores de colágeno total da carne, embora a tendência fosse decrescente após o período de maturação. Dos resultados observam-se correlações significativas, inversa e direta, entre o colágeno e os parâmetros de maciez MFI e FC, respectivamente para ambos os sexos ($p < 0,01$), sugerindo o efeito do número de ligações cruzadas por mol de colágeno na maciez de carne entre diferentes músculos e/ou animais (BAILEY, 1989), porém controvérsias são encontradas na literatura que não definem correlações entre estas variáveis (AVERY et al., 1996; 1998).

Os valores de PPC apresentaram correlações significativas com os valores de tióis livres para ambos os sexos ($p < 0,0001$; 0,01; machos e fêmeas, respectivamente), podendo ser associado à desnaturação da miosina ou ao enfraquecimento das miofibrilas decorrente da oxidação protéica bem como do tratamento térmico (SRINIVASAN; XIONG; DECKER, 1997; XIA et al., 2009). Da mesma, foram observadas correlações significativas entre os valores de PPC e os parâmetros de maciez (MFI e FC) e pH para a carne de machos inteiros. Os altos valores de pH observados em machos inteiros podem propiciar uma maior capacidade de retenção de

água pelas proteínas musculares ao interior das células (LAWRIE; LEDWARD, 2006), explicando a tipo de correlação inversa e significativa entre estas duas variáveis. As correlações entre PPC e os parâmetros de maciez estão ligados ao processo natural de maturação da carne, onde ocorre a proteólise e uma maior fragilização das miofibrilas favorecendo maior perda de água na cocção. No mesmo sentido, Huff-Lonergan et al., (2002) observaram correlações entre FC e PPC.

Os resultados revelaram uma forte correlação entre FC e MFI para machos inteiros e fêmeas de descarte (r = 0,807 e 0,808; p < 0,0001, respectivamente) indicando que degradação de proteínas miofibrilares foi intimamente associada com a maciez da carne neste estudo, sugerindo que ambas metodologias podem ser utilizadas para a predição de maciez de carne bovina originária de machos inteiros e fêmeas de descarte.

Tabela 24 – Coeficientes de correlação[1] entre os parâmetros de qualidade de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos machos inteiros estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

	L*	C*	h*	pH	TBARS	Tiol	MFI	Colágeno	PPC	FC
L*	1,000	0,839***	-0,363***	-0,155^{ns}	0,482***	-0,140^{ns}	-0,038^{ns}	-0,217*	-0,010^{ns}	0,042^{ns}
C*		1,000	-0,552***	-0,194*	0,462***	-0,052^{ns}	0,134^{ns}	-0,200*	-0,005^{ns}	-0,067^{ns}
h*			1,000	-0,140^{ns}	-0,250**	-0,047^{ns}	-0,531***	0,260**	0,042^{ns}	0,488***
pH				1,000	-0,225*	0,291**	0,295**	0,102^{ns}	-0,247**	-0,336**
TBARS					1,000	-0,170^{ns}	0,021^{ns}	-0,160^{ns}	0,115^{ns}	0,057^{ns}
Tiol						1,000	-0,062^{ns}	0,388***	-0,357***	0,071^{ns}
MFI							1,000	-0,263**	-0,281**	-0,807***
Colágeno								1,000	-0,090^{ns}	0,309**
PPC									1,000	0,328**
FC										1,000

[1] Coeficientes de correlação de Pearson. *, **, *** significantes ao $P \leq 0,05$; 0,01; 0,0001, respectivamente, ^{ns}, não significativa
L*: luminosidade; C*: croma – saturação de vermelho; h*: hue – intensidade de marrom; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; MFI: índice de fragmentação miofibrilar; TIOL: tióis livres; PPC: perda de peso por cocção; FC: força de cisalhamento

Tabela 25 – Coeficientes de correlação[1] entre os parâmetros de qualidade de bifes obtidos de músculos *Longissimus thoracis* e *Longissimus lumborum* de bovinos fêmeas de descarte estocados em diferentes sistemas de embalagem a 2 °C por 28 dias

	L*	C*	h*	pH	TBARS	Tiol	MFI	Colágeno	PPC	FC
L*	1,000	0,715***	-0,411***	0,220*	0,486***	-0,399***	0,303**	-0,372***	0,078^{ns}	-0,217*
C*		1,000	-0,804***	-0,044^{ns}	0,287**	-0,115^{ns}	0,326**	-0,345**	0,057^{ns}	-0,277**
h*			1,000	0,078^{ns}	-0,196*	-0,160^{ns}	-0,234*	0,208*	-0,001^{ns}	0,211*
pH				1,000	0,363***	-0,252**	-0,166*	-0,016^{ns}	-0,046^{ns}	0,158^{ns}
TBARS					1,000	-0,247**	0,180*	-0,054^{ns}	0,080^{ns}	-0,230*
Tiol						1,000	-0,284**	0,313**	-0,335**	0,226*
MFI							1,000	-0,345**	0,120^{ns}	-0,808***
Colágeno								1,000	-0,157^{ns}	0,300**
PPC									1,000	-0,041^{ns}
FC										1,000

[1] Coeficientes de correlação de Pearson. *, **, *** significantes ao $P \leq 0,05$; 0,01; 0,0001, respectivamente, ^{ns}, não significativa
L*: luminosidade; C*: croma – saturação de vermelho; h*: hue – intensidade de marrom; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; MFI: índice de fragmentação miofibrilar; TIOL: tióis livres; PPC: perda de peso por cocção; FC: força de cisalhamento

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que atmosferas modificadas contendo CO até concentrações de 0,4%, melhoram a estabilidade da cor de carne *in natura* de bovinos *Bos indicus* da raça Nelore de ambos os sexos, durante estocagem a 2 °C por 28 dias. Menor deterioração da cor da carne foi observada em bifes embalados em atmosferas contendo 75% de O_2 que no vácuo, onde a carne apresentou descoloração transitória ou irreversível para ambos os músculos e sexos. A propriedade do CO possibilita a estabilidade da cor vermelha brilhante altamente estável e atrativa em carnes frescas.

Os diferentes sistemas de embalagem não influenciaram no pH da carne, porém foi confirmado que carne originária de bovinos machos inteiros apresenta maiores valores de pH que a carne de fêmeas de descarte, sustentando a teoria de maior suscetibilidade ao estresse pré-abate do primeiro grupo.

A estabilidade oxidativa lipídica e protéica da carne foi drasticamente afetada pela presença de O_2 na atmosfera modificada. O processo oxidativo foi observado na carne após maturação para os diferentes tipos de embalagem, porém, um processo acelerado foi favorecido pela presença do O_2 em comparação às embalagens anóxicas.

Os bifes apresentaram amaciamento gradual após maturação nos diferentes sistemas de embalagens, como observado pelos resultados de força de cisalhamento e índice de fragmentação miofibrilar. Atmosferas contendo CO favoreceram maior amaciamento da carne que o vácuo e atmosfera com alto O_2.

O teor de colágeno total e as perdas de peso por cocção dos bifes não foram afetados pelos diferentes sistemas de embalagem e o período de estocagem, porém, foram observados redução e aumento, não significantes, sobre estas variáveis, respectivamente, após maturação a 2 °C por 28 dias para ambos os músculos e sexos.

Foram detectadas correlações significativas ($p < 0,05$; 0,01; 0,0001) entre determinados parâmetros de qualidade da carne.

Embora a qualidade da carne *in natura* seja assunto exaustivamente estudado pelos cientistas de carne, futuras pesquisas são certamente necessárias para a compreensão de diferentes aspectos chaves que continuam sem esclarecimentos. Deste estudo foi concluído que sistemas de embalagem afetam diversos parâmetros de

qualidade de carne, porém é necessária a compressão dos mecanismos bioquímicos específicos ligados às alterações no produto, permitindo projetar estratégias e tecnologias mais eficazes na conservação dos atributos desejáveis ao consumidor.

REFERÊNCIAS

ADAMS, C.A. Oxidation and antioxidnts. In:_____. **Nutries**: food components in health and nutrition. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. Chap.2, p. 11-32.

AGUIRREZÁBAL, M.M.; MATEO, J.; DOMÍNGUEZ, M.C.; ZUMALACÁRREGUI, J.M. The effect of paprika, garlic and salto n rancidity in dry sausages. **Meat Science**, Barking, v. 54, p. 77-81, Jan. 2000.

ALONSO, V.; PROVINCIAL, L.; GIL, M.; GUILLÉN, E.; RONCALÉS, P.; BELTRÁN, J.A. The impact of short-term feeding of magnesium supplements on the quality of pork packaged in modified atmosphere. **Meat Science**, Barking, v. 90, p. 52-59, Jan. 2012.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION - AMSA. **Research guidelines for cookery, sensory evaluation and instrumental tenderness measuremente of fresh meat.** Chicago**,** 1995. p. 48.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16th ed. Arlington, 1995. v.2.

AVERY, N. C.; SIMS, T. J.; WARKUP, C.; BAILEY, A.J. Collagen cross-linking in porcine M. *longissimus lumborum*: absence of a relationship with variation in texture at pork weight. **Meat Science**, Barking, v. 42, p. 355-369, Apr. 1996.

BAILEY, A.J.; LIGHT, N.D. **The connective tissue of meat and meat products**. London: Elsevier, 1989. 356 p.

BARACAT, R.S. **Avaliação do processo por embalagem do tipo atmosfera modificada na conservação da carne bovina porcionada.** 2006. 72p. Tese (Doutorado em Qualidade e Produtividade Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

BELCHER, J.N. Industrial packaging developments for the global meat market. **Meat Science**, Barking, v. 74, p. 143-148, Sept. 2006.

BELEW, J.B.; BROOKS, J.C.; McKENNA, D.R.; SAVELL, J.W. Warner-Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. **Meat Science**, Barking, v. 64, p. 507-512, Aug. 2003.

BELTRÁN, J. A.; SANTOLARIA, P.; SAÑUDO, C.; ALBERTÍ, P.; RONCALÉS, P. Effect of stress-induced high post-mortem pH on protease activity and tenderness of beef. **Meat Science**, Barking, v. 45, p. 201-207, Feb. 1997.

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

BRAGAGNOLO, N. Aspectos comparativos entre carnes segundo a composição de ácidos graxos e teor de colesterol. In: CONFERENCIA IINTERNATIONAL VIRTUAL SOBRE QUALIDADE DE CARNE SUINA 2.; 2001, Concórdia. **Anais** ... .Concordia, 2001, p. 393-402.

BRODY, A. L. Case-ready packaging for red meat. **Food Technology**, Oxford, v. 61, p. 70−72, Mar, 2007.

BUTCHERS, A. D. M., FERGUSON, D. M., DEVINE, C. E., THOMPSON, J. M. Interaction between pre-slaughter handling and low voltage electrical stimulation and the effect beef quality. In: INTERNATIONAL CONGRESS MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY 44.; 1998, Baltimore. **Proceedings** ... Baltimore: ICoMST, 1998. p. 1050-1081.

BUTTERFIELD, D.A.; KOPPAL, T.; HOWARD, B.; SUBRAMANIAM, R.; HALL, N.; HENSLEY, K.; YATIN, S.; ALLEN, K.; AKSENOV, M.; AKSENOVA, M.; CARNEY, D.J. Structural and functional changes in proteins induced by free radical-mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl-*α*-phenylnitrone and vitamin E. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 854, p. 448-462, Nov. 1998.

CARDOSO, S. **Estimulação elétrica, tipo de desossa e taxas de resfriamento da carne bovina (*Longissimus Lumborum* e *Semitendinosus*)**: efeitos em características físicas, físicoquímicas, sensoriais e bacteriológicas. 2005. 146p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2005.

CARLIN, K.R.M.; HUFF-LONERGAN, E.; ROWE, L.J.; LONERGAN, S.M. Effect of oxidation, pH, and ionic strength on calpastatin inhibition of μ- and m-calpain. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 84, p. 925-937, Apr. 2006.

CRYOVAC. **BB2800**: incolor, side seal, liso. Sec. vendas: Sealed Air Cryovac, 2007. 2 p.

CAYUELA, J.M.; GIL, M.D.; BAÑÓN, S.; GARRIDO, M.D. Effect of vaccum and modified atmosphere packaging on the quality of pork loin. **European Food Research and Technolog**, New York, v. 219, p. 316-320, Sept. 2004.

CHURCH, N. Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 5, p. 345-352, Nov. 1994.

CLAUSEN, I.; MADSEN, N.T. Sensory evaluation of ground beef stored in different atmospheres. In: INTERNATIONAL CONGRESS MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY 51.; 2005, Dublin. **Proceedings ...** Dublin: ICoMST, 2005. p. 910-915.

CLAUSEN, I.; JAKOBSEN, M.; ERTBJERG, P.; MADSEN, N.T. Modified atmosphere packaging affects lipid oxidation, miofibrillar fragmentation index and eating quality of beef. **Packaging Technology and Science**, Malden, v. 22, p. 85-96, Mar. 2009.

CONCEIÇÃO, M.P.J. **Avaliação de sistemas de embalagem e condições de comercialização de carne bovina moída em atmosfera modificada.** Campinas, 2002, 116 p. Tese (doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas.

CORNFORTH, D.P.; HUNT, M.C. **Low-oxygen packaging of fresh meat with carbon monoxide:** meat quality, microbiology and safety. American Meat Science Association, Savoy, v. 1, p. 1-10, Jan. 2008.

CROSS, H.R.; SCHANBACHER, B.D., CROUSE, J.D. Sex, age and breed related changes in bovine testosterone and intramuscular collagen. **Meat Science**, Barking, v. 10, p. 187-195, Mar. 1984.

CULLER, R. D.; PARRISH, F. C. Jr.; 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, Jul. 1978.

DAVIES, M.J.; DEAN, R.T. **Radical-mediated protein oxidation**. Oxford: Oxford Science Publications, 2003. 443 p.

DE SANTOS, F.; ROJAS, M.; LOCKHORN, G.; BREWER, M. S. Effect of carbon monoxide in modified atmosphere packaging, storage time and endpoint cooking temperature on the internal color of enhanced pork. **Meat Science**, Barking, v. 77, p. 520-528, Dec. 2007.

DECKER, E.A.; CRUM, A.D.; SHATHAN, N.C.; MORRISSEY, P.A. Catalysis of lipid oxidation by iron originating form an insoluble fraction of beef diaphragan muscle. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, p. 233-236, Mar. 1993.

DJENANE, D.; SANCHEZ-ESCALANTE, A.; BELTRÁN, J. A.; RONCÁLES, P. The shelf-life of beef steaks treated with dl-lactic acid and antioxidants and stored under modified atmospheres. **Food Microbiology**, London, v. 20, p. 1-7, Feb. 2003.

DRANSFIELD, E. Intramuscular composition and texture of beef muscles, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 28, p. 833-842, Sept. 1977.

_____. Eating quality of DFD beef. In: HOOD, D.E.; TARRANT, P.V. (Ed.). **The problem of dark-cutting in beef**. Hague: Commission of the European Communities. Coordination of Agricultural Research , 1981, chap. 1, p. 345-361.

_____. E. Tenderness of meat, poultry and fish. In: PEARSON, A.M.; DUTSON, T.R. (Ed.). **Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products**. Advances in meat research series. London: Blackie Academic and Professional, 1994. Chap. 11, p. 289-315.

DUGAN, M.E.R.; AALHUS, J.L. Beef tenderness: within *Longissimus thoracis* et *lumborum* steak variation as affected by cooking method. **Canadian Journal of Animal Science**, Barking, v. 78, p. 711-714, Dec. 1998.

ELLMAN, G.L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.82, p. 70-77, May 1959.

ESMER, O. K.; IRKIN, R.; DEGIRMENCIOGLU, N.; DEGIRMENCIOGLU, A. The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat. **Meat Science**, Barking, v. 88, p. 221-226, Jun. 2011.

EUCLIDES FILHO, K.; FEIJÓ, G.L.D.; FIGUEIREDO, G.R.; EUCLIDES, V.P.B.; SILVA, L.O.C.; CUSINATO, V.Q. Efeito de idade à castração e de grupos genéticos sobre o desempenho em confinamento e características de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 71-76, Nov. 2001.

ESTÉVEZ, M.; MORCUENDE, D.; VENTANAS, S. Determination of oxidation. In: MOLLET, L.M.L.; TOLDRÁ, F. (Ed.). **Handbook of processed meat and poultry analysis**. Boca Raton: CRC Press: Taylor & Francis, 2009. Chap. 8, p. 141-162.

ESTÉVEZ, M.; OLLILAINEN, V.; HEINONEN, M. Analysis of protein oxidation markers - α-aminoadipic and ɣ-glutamic semialdehydes - in food proteins by using LC-ESI-multi-stage tandem MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, p. 3901-3910, Mar. 2009.

FAGAN, J.M.; SLECZKA, B.G.; SOHAR, I. Quantitation of oxidative damage to tissue proteins. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, New York, v. 31, p. 751-757, Jul. 1999.

FAOstat. Food Agriculture Organization. **Statistical database** Disponível em: < http://faostat.fao.org/default.aspx>. Acesso em: 01 ago. 2011.

FAUSTMAN, C.; CASSENS, R.G. The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A review. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 1, p. 217-243, Jul. 1990.

FERNANDEZ, J.; PEREZ-ALVAREZ, J.A.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. **Food Chemistry**, Barking, v. 59, p. 345-353, Jul. 1997.

FIEMS, L.O.; DE CAMPENEERE, S.; VAN CAELENBERGH, W.; DE BOEVER, J.L.; VANACKER, M. Carcass and meat quality in double-muscled Belgian Blue bulls and cows. **Meat Science**, Barking, v. 63, p. 345-352, Nov. 2003.

FILGUERAS, R.S.; GATELLIER, P.; AUBRY, L.; THOMAS, A.; BAUCHART, D.; DURAND, D.; ZAMBIAZI, R.C.; SANTÉ-LHOUTELLIER, V. Colour, lipid and protein stability of Rhea americana meat during air- and vacuum-packaged storage: Influence of muscle on oxidative processes. **Meat Science**, Barking, v. 86, p. 665–673, Nov. 2010.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **GRAS notice nr GRN 000143 (2004).** Disponível em: http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-g143.html. Acesso em: 05 jul. 2011.

GARIÉPY, C.; JONES, S.D.M.; ROBERTSON, W.M. Variation in meat quality at three sites along the length of the beef *Longissimus* muscle. **Canadian Journal of Animal Science**, Barking, v. 70, p. 707–710, Feb. 1990.

GILL, C.O. The solubility of carbon dioxide in meat. Meat Science, Barking, v. 22, p. 65-71, Mar. 1988.

_____. Extending the storage life of raw chilled meats. **Meat Science**, Barking, v. 43, p. S99-S109, Jan. 1996.

GILL, C.O.; JONES, T. The display of retail packs of ground beef after their storage in master packages under various atmospheres. **Meat Science**, Barking, v. 37, p. 281-295, Jun. 1994.

_____. Packaging and the Shelf Life of Fresh Red and Poultry Meats. In: ROBERTSON, G.L. (Ed.). **Food packaging and shelf life:** a practical guide, Boca Raton, CRC Press: Taylor & Francis, 2010. Chap. 14, p. 259-277.

GILL, C.O.; MOLIN, G. Modified atmospheres and vacuum packing. In: RUSSEL, N.Y.; GOULD, G.W. (Ed.). **Food preservatives.** Glasgow: Blackie, 1991. Chap. 8, p. 172-199.

GORNALL, A.G.; BARDAWILL, C.J.; DAVID, M.M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **Journal of Biology and Chemistry**, Baltimore, v. 177, p. 751-766, Feb. 1949.

GUILLÉN-SANS, R.; GUZMÁN-CHOZAS, M. The Thiobarbituric Acid (TBA) Reaction in Foods: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton., v. 38, p. 315-350, Jun. 1998.

GRAY, J.I.; GOMAA, E.A.; BUCKLEY, D.J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat Science**, Barking, v. 43, p. S111-S123, Aug. 1996.

GROBBEL, J.P., DIKEMAN, M.E., HUNT, M.C., MILLIKEN, G.A. Effects of packaging atmospheres on beef instrumental tenderness, fresh color stability, and internal cooked color. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 86, p. 1991-1199; May 2008.

GUARDIOLA, F.; CODONY, R.; ADDIS, P.B.; RAFECAS, M.; BOATELLA, J. Biological effects of oxysterols: Current status. **Journal of Food Science**, London, v. 34, p. 193-211, Jan. 1996.

HAAK, L., RAES, K., SMET, K., CLAEYS, E., PAELINCK, H., De SMET, S. Effect of dietary antioxidant and fatty acid supply on the oxidative stability of fresh and cooked pork. **Meat Science**, Barking, v. 74, p. 476-486, Nov. 2006.

HANSEN, S.; HANSEN, T.; AASLYNG, M.D.; BYRNE, D.V. Sensory and instrumental analysis of longitudinal and transverse textural variation in pork *longissimus dorsi*. **Meat Science**, Barking, v. 68, p. 611-629, Apr. 2004.

HEDRICK, H.B.; ABERLE, E.D.; FORREST, J.C.; JUDGE, M.D.; MERKEL, R.A. Principles of meat science. 3rd ed. Duduque: Kendall/Hunt Publishing, 1994. 354 p.

HERAS, A.; SCHOCH, A.; GIBIS, M.; FISCHER, A. Comparison of methods for determining malonaldehyde in dry sausages by HPLC and the classic TBA test. **European Food Research and Technology**, New York, v. 217, p. 180-184, Aug. 2003.

HERRERA-MENDEZ, C.H.; BECILA, S.; BOUDJELLAL, A.; OUALI, A. Meat ageing: reconsideration of the current concept. **Trends in Food Science & Technology**, Cambrigde, v. 17, p. 394-405, Sept. 2006.

HOFMANN, K.; REINER, H. Sulfhydryl and disulfide groups in meats. **Advances in Food Research**, New York, v. 24, p. 1-111, Apr. 1978.

HOLLEY, R.A; GILL, C.O. Usos da embalagem em atmosfera modificada para carnes e produtos cárneos. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES; 2007, Campinas. **Anais ...** Campinas, 2007.

HOLLEY, R.A.; PEIRSON, M.D.; LAM, J.; TAN, K.B. Microbial profiles of commercial, vacuum-packaged, fresh pork of normal or short storage life. **International Journal Food Microbiology**, Amsterdam, v. 97, p. 53-62, Dec. 2004.

HONIKEL, K.O. Conversion of muscle to meat. In: JENSEN, W.K.; DEVINE, C.E.; DIKEMAN, M. (Ed.). **Encyclopedia of meat sciences**. London: Elsevier Academic Press, 2004. Chap. 2, p. 35-42

HOPKINS, D.L.; GEESINK, G.H. Protein degradation post mortem and tenderisation. In: DU, M.; MCCORMICK, R.J. (Ed.). **Applied muscle biology and meat science.** Boca Raton: CRC Press: Taylor & Francis, 2009. Chap. 8, p. 149-173.

HOPKINS, D.L.; TAYLOR, R.G. Post-mortem muscle proteolysis and meat tenderness. In: EVERTS, M.; te PAS, M.; HAAGSMAN, H. (Ed.). **Muscle development of livestock animals: physiology, genetics, and meat quality**. Oxford: CAB International, 2004. Chap. 17, p. 363-388.

HUFF-LONERGAN, E. Correlations among selected pork quality traits. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 80, p. 617-627, Mar. 2002.

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

HUNT, M.C.; MANCINI, R.A.; HACHMEISTER, D.H.; KROPF, D.H.; MERRIMAN, M.; DELDUCA, G.; MILIKEN, G. Carbon monoxide in modified atmosphere packaging affects color, shelf life, and microorganisms of beef steaks and ground beef. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 69, p. FCT45-FCT52, Jan. 2004.

INSANI, E.M.; EYHERABIDE, A.; GRIGIONI, G.; SANCHO, A.M.; PENSEL, N.A.; DESCALZO, A. M. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. **Meat Science**, Barking, v. 79, p. 444-452, Jul. 2008.

INSAUSTI, K.; BERIAIN, M.J.; PURROY, A.; ALBERTI, P.; LIZASO, L.; HERNANDEZ, B. Colour stability of beef from different Spanish native cattle breeds stored under vacuum and modified atmosphere. **Meat Science**, Barking, v. 53, p. 241-249, Dec. 1999.

JAKOBSEN M. **Optimizing MAP of meat through modelling :** modelling colour stability and changes in headspace gas composition during storage. 2003. p. 158. Ph.D. (Thesis). The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, 2003.

JAKOBSEN, M.; BERTELSEN, G. Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition. **Meat Science**, Barking, v. 54, p. 49-57, Jan. 2000.

_____. The use of co in packaging of fresh red meats and its effect on chemical, quality changes in the meat: a review. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 13, p. 143-168, Jun. 2002.

JANZ; J.A.M.; AALHUS, J.L.; DUGAN, M.E.R.; PRICE, M.A. A mapping method for the description of Warner–Bratzler shear force gradients in beef *Longissimus thoracis et lumborum* and *Semitendinosus.* **Meat Science**, Barking, v. 72, p. 79-90, 2006.

JAYASINGH, P. CORNFORTH, D.P.; CARPENTER, C.E.; WHITTIER, D. Evaluation of carbon monoxide treatment in modified atmosphere packaging or vacuum packaging to increase color stability of fresh beef. **Meat Science**, Barking, v. 59, p. 317-324, Nov. 2001.

JAYASINGH, P.; CORNFORTH, D.P.; BRENNAND, C.P.; CARPENTER, C.E.; WHITTIER, D.R. Sensory evaluation of ground beef stored in high-oxigen modified atmosphere packaging. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, p. 3493-3496, Nov. 2002.

JELENÍKOVÁ, J. PIPEK, P. STARUCH, L. The influence of ante-mortem treatment on relationship between pH and tenderness of beef. **Meat Science**, Barking, v. 80, p. 870-874, Nov. 2008.

JEONG, J.Y.; CLAUS, J.R. Color stability of ground beef packaged in a low carbon monoxide atmosphere or vacuum. **Meat Science**, Barking, v. 87, p.1-6, Jan. 2011.

JEREMIAH, L.E. Packaging alternatives to deliver fresh meats using short-or long-term distribution. Food Research International, Barking, v. 34, p. 749-772, Aug. 2001.

JEREMIAH, L.E., TONG, A.K.W., GIBSON, L.L. The usefulness of muscle color and pH for segregating beef carcasses into tenderness groups. **Meat Science**, Barking, v. 30, p. S97-S114, Aug. 1991.

JO, C.; AHN, D.U. Fluorometric analysis of 2-thiobarbituric acid reactive substances in turkey. **Poultry Science**, Savoy, v. 77, p. 475-480, Mar. 1998.

JOHN, L.; CORNFORTH, D.; CARPENTER, C.E.; SORHEIM, O.; PETTEE, B.C.; WHITTIER, D.D.R. Color and thiobarbituric acid values of cooked top sirloin steaks packaged in modified atmospheres of 80% oxygen, or 0.4% carbon monoxide, or vacuum. **Meat Science**, Barking, v. 69, p. 441-449, 2005.

JOHNSON, D.D.; HUFFMAN, R.D.; WILLIAMS, S.E.; HARGROVE, D.D. Effect of percentage Brahman and Angus breading age-season of feeding and slaughter and point on meat palatability and muscles characteristics. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 1980-1986, 1990.

JUNCHER, D.; RØNN, B.; MORTENSEN, E.T.; HENCKEL, P.; KARLSSON, A.; SKIBSTED, L.H.; BERTELSEN, G. Effect of pre-slaughter physiological conditions on the oxidative stability of colour and lipid during chill storage of pork. **Meat Science**, Barking, v. 58, p. 347-357, Feb. 2001.

JUNQUEIRA, C.L.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica.** 10ª ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004. 488 p.

KENNEDY, C.; BUCKLEY, D.J.; KERRY, J.P. Display life of sheep meats retail packaged under atmospheres of various volumes and compositions. **Meat Science**, Barking, v. 68, p. 649−658, Dec. 2004.

KIM, Y.H.; HUFF-LONERGAN, E.; SEBRANEK, J.G.; LONERGAN, S.M. High-oxygen modified atmosphere packaging system induces lipid and myoglobin oxidation and protein polymerization. **Meat Science**, Barking, v. 85, p. 759-767, Aug. 2010.

KRANNER, J. Oxidative process in meat and meat products: quality implications. **Meat Science**, Barking, v. 36, p. S169-S189, Jan. 1994.

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, n. 10, p. 3071-3080, Oct. 1992.

_____. Biochemical factors regulating the toughning and tenderization processes of meat. **Meat Science**, Barking, v. 43, p. S193-S201, Jan. 1996.

_____. Muscle proteinases and meat ageing. **Meat Science**, Barking, v. 36, p. S93-S104, Jan. 1994.

KOOHMARAIE, M.; GEESINK, G.H. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. **Meat Science**, Barking, v. 74, p. 34-43, Sept. 2006.

KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L. Effect of prerigor freezing and postrigor calcium chloride injection on the tenderness of callipyge longissimus. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 76, p. 1427-1432, May 1998.

KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L.; LONERGAN, S.M. DOUMIT, M.E. A muscle hypertrophy condition in lamb (callipyge): characterization of effects on muscle growth and meat quality traits. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 73, p. 3596-3607, Dec. 1995.

LAGERSTEDT, A.; LUNDSTRÖM, K.; LINDAHL, G. Influence of vacuum or high-oxygen modified atmosphere packaging on quality of beef M*. Longissimus dorsi* steaks after different ageing times. **Meat Science**, Barking, v. 87, p. 101-106, Feb. 2011.

LAWRENCE, T.E.; WHATLEY, J.D.; MONTGOMERY, T.H.; PERINO, L.J.; DIKEMAN, M.E. Influence of dental carcass maturity classification on carcass traits and tenderness of longissimus steaks from commercially fed cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 79, p. 2092-2096, Aug. 2001.

LAWRIE, R.A. The conversion of muscle to meat. In: LAWRIE, R.A.; LEDWARD, D. (Ed.). **Lawrie's meat science**. Cambridge: Wooodhead Publising Limited, 2006. Chap. 2, p. 128-156.

LAWSON, M.A. The role of integrin degradation in post-mortem drip loss in pork. **Meat Science**, Barking, v. 68, p. 559-566, Dec. 2004.

LINDAHL, G.; LAGERSTEDT, A. ERTBJERG, P.; SAMPELS, S. LUNDSTRÖM, K. Ageing of large cuts of beef loin in vacuum or high oxygen modified atmosphere – Effect on shear force, calpain activity, desmin degradation and protein oxidation. **Meat Science**, Barking, v. 85, p. 160-166, May 2010.

LINDAHL, G. Colour stability of steaks from large beef cuts aged under vacuum or high oxygen modified atmosphere. **Meat Science**, Barking, v. 87, p. 428-435, Apr. 2011.

LIU, Z.; XIONG, Y.L.; CHEN, J. Identification of Restricting Factors That Inhibit Swelling of Oxidized Myofibrils during Brine Irrigation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, p. 10999-11007, Nov. 2009.

LIVINGSTON, D.J.; BROWN, W.D. The chemistry of myoglobin and its reactions. **Food Technology**, Oxford, v. 35, p. 244-252, Aug. 1981.

LONERGAN, E.H.; LONERGAN, S.M. Interaction between myofibril structure and proteolytic tenderization in beef. In: INTERNATIONAL CONGRESS MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY: 54.; 2008, Cape Town. **Proceedings …** Cape Town: ICoMST, 2008.

LOWE, T.E.; DEVINE, C.E.; WELLS, R.W.; LYNCH, L.L. The relationship between post mortem urinary catecholamines, meat ultimate ph, and shear force in bulls and cows. **Meat Science**, Barking, v. 67, p. 251-260, Jun. 2004.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. In: _____. São Paulo: A. Luchiari Filho, 2000. 134 p.

LUND, M. N.; HVIID, M. S.; SKIBSTED, L. H. The combined effect of antioxidants and modified atmosphere packaging on protein and lipid oxidation in beef patties during chill storage. **Meat Science**, Barking, v. 76, p. 226-233, Jun. 2007b.

LUND, M.N.; HEINONEN, M.; BARON, C.P.; ESTÉVEZ, M. Protein oxidation in muscle foods: A review. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v. 55, p. 83-95, Apr. 2011.

LUND, M. N., LUXFORD, C., SKIBSTED, L. H., DAVIES, M. J. Oxidation of myosin by heme proteins generates myosin radicals and protein cross-links. **Biochemical Journal**, London, v. 410, p. 565-574, Aug. 2008.

LUND, M. N.; LAMETSCH, R.; HVIID, M. S.; JENSEN, O. N.; SKIBSTED, L. H. High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine longissimus dorsi during chill storage. **Meat Science,** Barking, v. 77, p. 295-303, Nov. 2007a.

LUÑO, M.; RONCALES P.; DJENANE D.; BELTRAN J.A. Beef shelf life in low O_2 and high CO_2 atmospheres containing different low CO concentrations. **Meat Science**. Barking, v. 55, p. 413-419, Aug. 2000.

MA, L.; XIONG, Y.L. Textural attributes and oxidative stability of pork longissimus muscle injected with marbling-like emulsified lipids. **Meat Science**, Barking, v. 89, p. 209–216, Oct. 2011.

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

MANCINI, R.A.; HUNT, M.C.; HACHMEISTER, K.A.; KROPF, D.H.; JOHNSON, D.E. Exclusion of oxygen from modified atmosphere packages limits beef rib and lumbar vertebrae marrow discoloration during display and storage. **Meat Science**, Barking, v. 69, p. 493-500, Mar. 2005.

MARTINAUD, A.; MERCIER, Y.; MARINOVA, P.; TASSY, C.; GATELLIER, P.; RENERRE, M. Comparison of oxidative processes on myofibrillar proteins from beef during maturation and by different model oxidation systems. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, v. 45, p. 2481-2487, Jul. 1997.

MARTÍNEZ, L.; DJENANE, D.; CILLA, I; BELTRÁN, J.A.; RONCALÉS, P. Effect of different concentrations of carbon dioxide and low concentration of carbon monoxide on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. **Meat Science**, Barking, v. 71, p. 563-570, Nov. 2005.

McMILLIN, K. W. Initiation of oxidative processes in muscle foods. In: RECIPROCAL MEAT CONFERENCE 49.; 1996, Provo. **Proceedings …** Provo: Reciprocal, 1996. p. 53-64, Jun. 1996.

_____. Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. **Meat Science**, Barking, v. 80, p. 43-65, Sept. 2008.

McKEITH, F.K.; DEVOL, D.L.; MILES, R.S.; BECHTEL, P.J.; CARR, T.R. Chemical and sensory properties of thirteen major beef muscles. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, p. 869-872, 1985.

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

MERCIER, Y.; GATELLIER, PH.; RENERRE, M. Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. **Meat Science**, Barking, v. 66, p. 467-473, Feb. 2004.

MERCIER, Y.; GATELLIER, P.; VICENT, A.; RENERRE, M. Lipid and protein oxidation in microsomal fraction from turkeys: influence of dietary fat and vitamin E supplementation. **Meat Science**, Barking, v. 58, p. 125-134, Jun. 2001.

MIGDAL, W.; D. WOJTYSIAK; P. PASCIAK; T. BAROWICZ; M. PIESZKA; K. POLTOWICZ; B. ZIVKOVIC; M. FABIJAN. The histochemical profile of the muscle fibre in fatteners genetic and non-genetic factors. **Biotechnology in Animal Husbandry**, Belgadre, v. 21, p. 161-167, Mar. 2005.

MILLER, M.; CARR, M.; RAMSEY, C.; CROCKETT, K.; HOOVER, L. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 79, p. 3062-3068, Dec. 2001.

MØLLER, J.K.S.; SKIBSTED, L.H. Myoglobins: the link between discoloration and lipid oxidation in muscle and meat. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, p. 1270-1278, Jul. 2006.

MONAHAN, F.J. Oxidation of lipids in muscle foods: fundamental and applied concerns. In: DECKER, E.; FAUSTMAN, C.; LOPEZ-BOTE, C.J. (Ed.). **Antioxidants in muscle foods, nutritional strategies to improve quality**. New York: John Wiley & Sons, 2000. Chap. 1, p. 3-23.

MONAHAN, F.J.; GRAY J.I.; ASGHAR, A.; HAUG, A.; STRASBURG, G.M.; BUCKLEY, D.J.; MORRISSEY, P. A. Influence of diet on lipid oxidation and membrane structure in porcine muscle microsomes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 42, p. 59-63, Jan. 1994.

MONSÓN,F.; SAÑUDO, C.; SURRE, I. Influence of cattle breed and ageing time on textural meta quality. **Meat Science**, Barking, v. 68, p. 565-602, Mar. 2004.

MORALES-CASTRO, J.; OCHOA-MARTÍNEZ, L.A. Safety and quality effects in foods stored under modified atmosphere conditions. In: ORTEGA-RIVAS, E. (Ed.) **Processing effects on safety and quality of foods**. Boca Raton: CRC Press: Taylor & Francis, 2010. Chap. 10, p. 253-294.

MORGAN, J.B.; WHEELER, T.L.; KOOHMARAIE, M.; CROUSE, J.D.; SAVELL, J.W. Effect of castration on myofibrillar protein turnover, endogenous proteinase activities, and muscle growth in bovine skeletal muscle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 71, p.408-414, Feb. 1993.

MORRISSEY, P.A., SHEEHY, P.J.A., GALVIN, K., KERRY, J.P., BUCKLEY, D.J. Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, Barking, v. 49, p. S73-S86, Jan. 1998.

MORZEL, M.; GATELLIER, P.; SAYD, T.; RENERRE, M.; LAVILLE, E. Chemical oxidation decreases proteolytic susceptibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. **Meat Science**, Barking, v. 73, p. 536-543, Jul. 2006.

MUHLISIN, M.; KANG, S.M.; CHOI, W.H.; LEE, K.T.; CHEONG, S.H.; LEE, S.K. The combination effect of modified atmosphere packaging and the addition of rosemary and organic acids on the storage quality of precooked hamburg steak refrigerated storage. In: INTERNATIONAL CONGRESS MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY 56.; 2010, Jeju. **Proceedings ...** Jeju: ICoMST, 2010. p. 500-505.

NISHI, L.M. **Efeito da temperatura de estocagem sobre a estabilidade de carne bovina (M. Gluteus medius) embalada a vácuo**. 2008. 138p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2008.

NISHIMURA, T.; OJIMA, K.; LIU, A.; HATTORI, A.; TAKAHASHI, K. Structural changes in the intramuscular connective tissue during development of bovine semitendinosus muscle. **Tissue & Cell**, Harlow Essex, v. 28, p. 527-536, Oct. 1996.

NORMAN, G.A. Effect of breed and nutrition on the productive traits of beef cattle in south-east Brazil: part 3 - Meat quality. **Meat Science**, Barking, v. 6, p. 79-96, Feb. 1982.

OBUZ, E.; DIKEMAN, M.E.; LOUGHIN, T.M. Effects of cooking method, reheating, holding time, and holding temperature on beef Longissimus lumborum and Biceps femoris tenderness. **Meat Science**, Barking, v. 65, p. 841-851, Oct. 2003.

OFFER, G.; KNIGHT, P. The strutural basis of water-holding in meat part 2: drip losses. In: LAWRIE, R. (Ed.). **Developments in meat science**. London: Elsevier Aplied Science, 1988. p. 172-243.

O'GRADY, M. N., F. J. MONAHAN, J. BAILEY, P. ALLEN, D. J. BUCKLEY, AND M. G. KEANE. Colour-stabilising effect of muscle vitamin E in minced beef stored in high oxygen packs. **Meat Science**, Barking, v. 50, p. 73-80, Sept. 1998.

O'GRADY, M.N.; MONAHAN, F.J.; BURKE, R.M.; ALLEN, P. The efect of oxygen level and exogenous a-tocopherol on the oxidative stability of minced beef in modified atmosphere packs. **Meat Science**, Barking, v. 55, p. 39-45, May 2000.

OLIVEIRA, L. M.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; CUNHA, D. G.; LEMOS, A. B. Embalagens termoformadas e termoprocessáveis para produtos cárneos processados. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, Campinas, v. 16, p. 202-210, Apr. 2006.

OOIZUMI,T.; XIONG, Y.L. Biochemical susceptibility of myosin in chicken myofibrils subjected to hydroxyl radical oxidizing systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 4303-4307, Jun. 2004.

OUALI, A.; TALMANT, A. Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. **Meat Science**, Barking, v. 28, p. 331-348, Jul. 1990.

OUALI, A.; HERRERA-MENDEZ, C.H.; COULIS, G.; BECILA, S.; BOUDJELLAL, A.; AUBRY, L. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. **Meat Science**, Barking, v. 74, p. 44-58, Sept. 2006.

PEARCE, K.L.; ROSENVOLD, K.; ANDERSEN, H.J.; HOPKINS, D.L. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes - A review. **Meat Science**, Barking, v. 89, p. 111-124, Oct. 2011.

PEGG, R.B. Spectrophotometric measurement of secondary lipid oxidation products. In: WROLSTAD, R.E; ACREE, T.E.; AN, H.; DECKER, E.A.; PENNER, M.H.; REID, D.S.; SCHWARTZ, S.J.; SHOEMAKER, C.F.; SPORNS, P. (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry.** Hoboken: John Wiley & Sons, 2001. D2.4.1-D2.4.18.

PÉREZ, M.L., ESCALONA, H., GUERRERO, I. Effect of calcium chloride marination on calpain and quality characteristics of meat from chicken, horse, cattle and rabbit. **Meat Science**, Barking, v.48, p. 125-134, Jan. 1998.

PULFORD, D.J.; FRAGA VAZQUEZ, S.; FROST, D.F.; FRASER-SMITH, E.; DOBBIE, P.; ROSENVOLD, K. The intracellular distribution of small heat shock proteins in post mortem beef is determined by ultimate pH. **Meat Science**, Barking, v. 79, p. 623-630, Aug. 2008.

PULFORD, D.J.; DOBBIE, P.; FRAGA VAZQUEZ, S.; FRASER-SMITH, E.; FROST, D.A.; MORRIS, C.A. Variation in bull beef quality due to ultimate muscle pH is correlated to endopeptidase and small heat shock protein levels. Meat Science, Barking, v. 83, p. 1-9, Sept. 2009.

PURCHAS, R.W. Some experience with dark-cutting beef in New Zealand. In: AUSTRALIAN MEAT AND LIVESTOCK RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION, 10.; 1988, Sydney. **Proceedings…** Sydney, 1988, p. 42-51.

PURSLOW, P.P.; TROTTER, J.A. The morphology and mechanical properties of endomysium in series-fibred muscles: Variations with muscle length. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, London, v. 15, p. 299-308, Jun. 1994.

PURSLOW, P. P.; SCHÄFER, A.; KRISTENSE, N, L.; BERTRAM, H. C.; ROSENVOLD, K.; HENCKEL, P. Water-holding of pork: Understanding the mechanisms. In: RECIPROCAL MEAT CONFERENCE, 54.; 2001, Indiana. **Proceedings …** Indiana, 2001, p. 134-142.

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

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

RENERRE, M. Oxidative processes and myoglobin. In: DECKER, E.; FAUSTMAN, C.; LOPEZ-BOTE, C.J. (Ed.) **Antioxidants in muscle foods, nutritional strategies to improve quality**. New York: John Wiley & Sons, 2000. chap. 5, p. 113-134.

RESTLE, J. GRASSI, C., FEIJÓ, G.L.D. Desenvolvimento e rendimento de carcaça de bovines inteiros ou submetidos a duas formas de castração, em condições de pastagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 25, p. 324-333, Jul. 1996.

RESTLE, J.; LUPATINI, G.C.; ROSO, C. Eficiência e desempenho de diferentes categorias de bovinos de corte em pastagem cultivada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 27, p. 397-404, Fev.. 1998.

ROSENVOLD, K. **Strategic feeding** - a tool in the control of technological pork quality. 2002. p. 150. Ph.D. (Thesis). Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2002.

ROSENVOLD K; BORUP U; THERKILDSEN M. Stepwise chilling: tender pork without compromising water-holding capacity. **Journal Animal Science**, Albany, v. 88, p. 1830-1841, Jan. 2010.

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

ROWE, L. J.; MADDOCK, K. R.; LONERGAN, S. M.; HUFF-LONERGAN, E. Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of milli-calpain. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 82, p. 3254-3266, Nov. 2004b.

RUIZ de HUIDOBRO, F.; MIGUEL, E.; BLÁZQUEZ, B.; ONEGA, E. A comparison between two methods (Warner-Bratzler and texture profile analysis) for testing either raw meat or cooked meat. **Meat Science**, Barking, v. 69, p. 527-536, Mar. 2005.

SENTANDREU, M.A.; COULIS, G.; OUALI, A. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 13, p. 400-421, Dec. 2002.

SANTOS, C.C. **Mecanismos adaptativos em frangos submetidos a estresse térmico agudo pré abate e suas implicações na funcionalidade protéica muscular**, Piracicaba, [s.n.], 2007. 57p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

SANZ, M.C.; VERDE, M.T.; SÁEZ, T.; SAÑUDO, C. Effect of breed on the muscle glycogen content and dark cuttinf incidence in stressed young bulls. **Meat Science**, Barking, v. 43, p. 37-42, May 1996.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; ANJOS, V.D.A.; ALVES, R.M.V.; ARDITO, E.F.G. **Embalagem para produtos cárneos.** Campinas: CETEA/ITAL, 1994.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; CANAVESI, E. Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis. Campinas: CETEA/ITAL, 2001. 213p.

SAVELL, J.W.; MUELLER, S.L.; BAIRD, B.E. The chilling of carcasses. **Meat Science**, Barking, v. 70, p. 449-459, Jul. 2005.

SEBRANEK, J.G.; HOUSER, T.A. Use of CO for red meats: Current research and recent regulatory approvals. In: OTWELL, W.S.; KRISTINSSON, H.G.; BALABAN, M.O. (Ed.) **Modified atmosphere processing and packaging of fish**. Ames: Blackwell Publishing, 2006. Chap. 6, p. 87-101.

SEBRANEK J.C.; HUNT, M.C.; CORNFORTH D.P. ; BREWER, M.S. Carbon Monoxide Packaging of Fresh Meat. **Food Technology**, v. 60, p. 184, Mar. 2006.

SEIDEMAN, S.C.; CROSS, H.R.; OLTJEN, R.R.; SCHANBACHER, B.D. Utilization of the intact male for red meat production: a review. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 55, p. 826-840, Jul. 1982.

SELANI, M.M.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; SHIRAHIGUE, L.D.; GALLO, C.R.; PLATA-OVIEDO, M.; MONTES-VILLANUEVA, N.D. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. Meat Science, Barking, v. 88, p. 397-403, Jul. 2011.

SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M.; WHEELER, T.L. Effects of slaughter age on meat tenderness and USDA carcass maturity scores of beef females. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 73, p. 3304-3309, Nov. 1995.

SHAMBERGER, R.J.; SHAMBERGER, B.A.; WILLIS, C.E. Malonaldehyde content of food. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 107, n. 8, p. 1404-1409, Aug. 1977.

SINGH, P.; WANI, A.A.; SAENGERLAUB, S.; LANGOWSKI, H.C. Understanding critical factors for the quality and shelf-life of MAP fresh meat:a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 51, p. 146-177, Jan. 2011.

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

SILVA, F.F.; VALADARES FILHO, S.C.; ÍTAVO, L.C.V.; VELOSO, C.M.; PAULINO, M.F.; VALADARES, R.F.D.; CECON, P.R.; SILVA, P.A.; GALVÃO, R.M. Consumo, desempenho, características de carcaça e biometria do trato gastrintestinal e dos órgãos internos de novilhos Nelore recebendo dietas com diferentes níveis de concentrado e proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, p. 1849-1864, Jul. 2002.

SØRENSEN, G.; JORGENSEN, S. S. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. **Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung und Forschung**, New York, v. 2002, p. 205-210, Sept. 1996.

SØRHEIM, O.; NISSEN, H.; NESBAKKEN, T. The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide. **Meat Science**, Barking, v. 52, p. 157-164, Jun. 1999.

SØRHEIM, O.; WAHLGREN, M.; NARUM, B.; LEA, P. Effects of high oxygen packaging on tenderness and quality characteristics of beef *Longissimus* muscles. In: INTERNATIONAL CONGRESS MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY: 50; 2004, Helsinki. **Proceedings …** Helsinki: ICoMST, 2004. p. 540-543.

SØRHEIM, O., ERLANDSEN, T., NISSEN, H., LEA, P.; HØYEM, T. Effects of modified atmosphere storage on colour and microbiological shelf life of normal and pale, soft and exudative pork. **Meat Science**, Barking, v.47, p.147–155, Sept. 1997.

SRINIVASAN, S.; XIONG, Y.L.; DECKER, E.A. Inhibition of Protein and Lipid Oxidation in Beef Heart Surimi-like Material by Antioxidants and Combinations of pH, NaCl, and Buffer Type in the Washing Media. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 44, p. 119−125, Jan. 1996.

STADTMAN, E.R. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanismand biological consequences. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 9, p. 315–325, Apr. 1990.

STADTMAN, E.R.; LEVINE, R.L. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. **Amino Acids**, Chicago, v. 25, p. 207, Dec. 2003.

STARKE-REED, P.E. OLIVER, C.N. Protein Oxidation and Proteolysis during Ageing and Oxidative Stress. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 275, p. 559-567, Dec. 1989.

STELZLENI, A.M.; JOHNSON, D.D.; THRIFT, T.A. Effects of days on concentrate feed and postmortem aging on carcass and palatability characteristics of selected muscles from cull beef cows. **The Professional Animal Scientist**, Champaign, v. 24, p. 334-341, Aug. 2008.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T. A distillation for the quantitativedetermination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of American Oil Chemist's Society**, Chicago, v. 37, p. 44-48, Jan. 1960.

TAYLOR, A.A.; DOWN, N.F.; SHAW, B.G. A comparison of modified atmosphere and vacuum skin packing for the storage of red meats. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 25, p. 98-109, Feb. 1990.

TAYLOR, R.G.; GEESINK, G.H.; THOMPSON, V.F.; KOOHMARAIE, M.; GOLL, D.E. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? **Journal of Animal Science**, Albany, v. 73, p. 1351-1367, May 1995.

THERKILDSEN, M.; STOLZENBACH, S.; BYRNE, D.V. Sensory profiling of textural properties of meat from dairy cows exposed to a compensatory finishing strategy. **Meat Science**, Barking, v. 87, p. 73-80, Mar. 2011.

THOMPSON LV. Skeletal muscle adaptations with age, inactivity, and therapeutic exercise. **Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy,** Washington, v. 32, p. 44-57, Feb. 2002.

THOMPSON, J.M.; PERRY, D.; DALY, B.; GARDNER, G.E.; JOHNSTON, D.J.; PETHICK, D.W. Genetic and environmental effects on the muscle structure response *post-mortem*. **Meat Science**, Barking, v. 74, p. 59-65, Sept. 2006.

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

TØRNGREN, M.A.; MADSEN, N.T. Effect of retail-packaging methods on premature browning of cooked beef patties, In: INTERNATIONAL CONGRESS MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY: 51.; 2005, Dublin. **Proceedings …** Dublin: ICoMST, 2005. p. 905-909.

TROY, D.J.; KERRY, J.P. Consumer perception and the role of science in the meat industry. **Meat Science**, Barking, v. 86, p. 214-226, Sept. 2010.

ULU, H. Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meats products. **Meat Science**, Barking, v. 67, p. 638-687, Aug. 2004.

VAZ, F. N.; RESTLE, J.; QUADROS, A. R. B.; PASCOAL, L. L.; SANCHEZ, L. M. B.; ROSA, J. R. P.; MENEZES, L. F. G. Características da carcaça e da carne de novilhos e de vacas de descarte Hereford, terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, p. 1501-1510, Abr. 2002.

VENTANAS, S.; ESTEVEZ, M.; TEJEDA, J. F.; RUIZ, J. Protein and lipid oxidation in Longissimus dorsi and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet. **Meat Science**, Barking, v. 72, p. 647-655, Apr. 2006.

VENTURINI, A.C., CONTRERAS, C.J.C., SARANTÓPOULOS, C.I.G.L., VILLANUEVA, N.D.M. The effects of residual oxygen on the storage life of retail-ready fresh beef steaks masterpackaged under atmosphere of CO_2. **Journal of Food Science,** v. 71, S560 - S566, Sept. 2006.

VENTURINI, A. C. **Sistemas de embalagens para carne bovina fresca em atmosfera modificada contendo reduzido nível de monóxido de carbono e elevadas concentrações de dióxido de carbono**. 2007. 146p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2007

VENTURINI, A.C.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; FARIA, J.A.F. Sistemas de embalagem para carne bovina fresca em atmosfera modificada. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 12, p. 128-137, Apr./Jun. 2009.

VENTURINI, A.C.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; FARIA, J.A.F.; GALLO, C.R.; SILVA, T.Z.; SHIRAHIGUE, L.D. Microbiological, colour and sensory properties of fresh beef steaks in low carbon monoxide concentration. **Packaging Technology and Science**, Malden, v. 23, p. 327-338, Oct. 2010.

VIANA, E.S.; GOMIDE, L.A.M.; VANETTI, M.C.D. Effect of modified atmospheres on microbiological, color and sensory properties of refrigerated pork. **Meat Science**, Barking, v. 71, p. 696-705, Dec. 2005.

VYNCKE, B.W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloracetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichmittel**, Leinfelden-Echterdingen, v. 72, p. 1084-1087, Jan. 1970.

_____. Evaluation of direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus* L.). **Fette Seifen Anstrichmittel**, Leinfelden-Echterdingen, v. 77, p. 239-240, Oct. 1975.

XIONG, Y.L. Protein oxidation and implications for muscle food quality. In: DECKER, E.A.; FAUSTMAN, C.; LOPEZ-BOTE, C.J. (Ed.). **Antioxidants in muscle foods, nutritional strategies to improve quality**. New York: John Wiley & Sons, 2000. Chap. 4, p. 85-111.

XIONG, Y. X.; LOU, X.; HARMON, R. J.; WANG, C.; MOODY, W. G. Salt- and pyrophosphate-induced structural changes in myofibrils from chicken red and white muscles. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, p. 1176-1182, Jun. 2000.

XIONG, Y.L.; MULLINS, O.E.; STIKA, J.F.; CHEN, J.; BLANCHARD, S.P.; MOODY, W.G. Tenderness and oxidative stability of post-mortem muscles from mature cows of various ages. **Meat Science**, v. 77, p. 105-113, Sept. 2007.

XIA, X.; KONG, B., LIU, Q.; LIU, J. Physicochemical change and protein oxidation in porcine *Longissimus dorsi* as influenced by different freeze–thaw cycles. **Meat Science**, Barking, v. 83, p. 239-245, Oct. 2009.

WARNER, R.D.; GREENWOOD, P.L.; PETHICK, D.W.; FERGUSON, D.M. Genetic and environmental effects on meat quality. **Meat Science**, Barking, v. 86, p. 171-183, Sept. 2010.

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

WHEELER, T.L.; CUNDIF, 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, Dec. 1994.

WHEELER, T.L.; SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M. Beef longissimus slice shear force measurement among steak locations and institutions. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 85, p. 2283-2289, Sept. 2007.

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

WILKINSON, B.H.P.; JANZ, J.A.M.; MOREL, P.C.H.; PURCHAS, R.W.; HENDRIKS, W.H. The effect of modified atmosphere packaging with carbon monoxide on the storage quality of master-packaged fresh pork. **Meat Science**, Barking, v. 73, p. 605-610, Aug. 2006.

WINTERBOURN, C.C. Oxidative reactions of hemoglobin. **Methods Enzymology,** New York, v. 186, p. 265-272, Oct. 1990.

YANCEY, J.W.S.; WHARTON, M.D.; APPLE, J.K. Cookery method and end-point temperature can affect the Warner-Bratzler shear force, cooking loss, and internal cooked color of beef longissimus steaks. **Meat Science**, Barking, v. 88, p. 1-7, May 2011.

YILMAZ, I.; DEMIRCI, M. Effect of different packaging methods and storage temperature on microbiological and physicochemical quality characteristics of meatball. **Food Science and Technology International**, London, v. 16, p. 259-265, Jun. 2010.

YOUNG, O. A.; THOMSON, R. D.; MERHTENS, V. G.; LOEFFEN, M. P. F. Industrial application to cattle of a method for the early determination of meat ultimate pH. **Meat Science**, Barking, v. 67, p. 112-118, May 2004.

YU, L.P.; LEE, Y.B. Effects of postmortem pH and temperature on bovine muscle structure and meat tenderness. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 51, p. 774-780, May 1986.

ZAKRYS, PI; HOGAN, S.A.; O'SULLIVAN, M.G.; ALLEN, P.; KERRY, J.P. Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. **Meat Science**, Barking, v. 79, p. 648-655, Aug. 2008.

ZAKRYS, P.I.; O'SULLIVAN, M.G.; ALLEN, P.; KERRY, J.P. Consumer acceptability and physiochemical characteristics of modified atmosphere packed beef steaks. **Meat Science**, Barking, v. 81, p. 720-725, Apr. 2009.

ZANARDI, E.; DORIGONI, V.; BADIANI, A.; CHIZZOLINI, R. Lipid and colour stability of Milano-type sausages: effect of packing conditions. **Meat Science**, Barking, v. 61, p. 7-14, May 2002.

ZHANG, W.; SHI, B.; SHI, J. A theoretical study on autoxidation of unsaturated fatty acids and antioxidant activity of phenolic compounds. **Journal of the American Leather Chemists Association**, Lubbock, v. 102, p. 99-105, Mar. 2007.