UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

YURI MIZUNO

**Efeito do tempo de maturação sobre a qualidade da carne de bovinos
Nelore não-castrados**

Pirassununga
2020

YURI MIZUNO

**Efeito do tempo de maturação sobre a qualidade da carne de bovinos
Nelore não-castrados**

Versão corrigida

Dissertação de Mestrado apresentado à
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de
Alimentos da Universidade de São Paulo,
como parte dos requisitos para a obtenção
do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva

Pirassununga
2020

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M685e Mizuno, Yuri
Efeito do tempo de maturação sobre a qualidade da
carne de bovinos Nelore não-castrados / Yuri Mizuno
; orientador Saulo da Luz e Silva ; coorientador
Alessandra Fernandes Rosa. -- Pirassununga, 2020.
51 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Degradação proteica. 2. Maciez. 3. Qualidade
de carne. I. da Luz e Silva, Saulo , orient. II.
Fernandes Rosa, Alessandra, coorient. III. Título.

YURI MIZUNO

Efeito do tempo de maturação sobre a qualidade da carne de bovinos Nelore não-castrados

Dissertação de Mestrado apresentado à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Data de Aprovação: 10/02/2021

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – FZEA/USP
Presidente da Banca Examinadora

Dr. Daniel Silva Antonelo

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – FZEA/USP

Prof. Dr. Jaime Urdapilleta Tarouco

Instituição: Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Profa. Dra. Mirele Daiana Poleti

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – FZEA/USP

Agradecimentos

Aos meus pais Ivete Mabe e Yukishike Mizuno, minha irmã Karina Mizuno, meu irmão Yugo Mizuno, que me inspiram em ser uma pessoa melhor a cada dia, à toda minha família, por não terem medido esforços para permitir que eu chegasse até aqui, além da força em todos os momentos difíceis.

Ao Professor Saulo da Luz e Silva pelas oportunidades que me proporcionou, pela confiança, compreensão, orientação, paciência e pelos conselhos que levarei para a vida toda.

À equipe LAAQC, por toda ajuda na coleta dos dados, em especial à Mariane Beline por toda ajuda, apoio, conselho e carisma. À Laura Toseti, Bruna Pavan e Juan Gómez pelos conselhos, ajuda e apoio para que chegasse até aqui.

À equipe SIPOC, por todas as risadas durante o almoço e trabalhos em grupo.

À Agrocere Multimix, pelo apoio e incentivo à realização do curso de mestrado.

MIZUNO, Y. **Efeito do tempo de maturação sobre a qualidade da carne de bovinos Nelore não-castrados**. 2020. 51 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do tempo de maturação sobre as características qualitativas da carne de bovinos Nelore. Foram colhidas 9 amostras do músculo *Longissimus* de 59 bovinos machos não-castrados, com idade média de 24 meses, 510 kg de peso vivo e confinados por um período médio de 95 dias. Cada amostra foi designada a um tempo de maturação totalizando nove períodos (0,3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 28 dias) distintos, onde cada amostra foi identificada e embalada a vácuo individualmente e mantidas em câmara fria (0 - 2 °C). Em cada período de maturação, as amostras foram retiradas da embalagem e foram expostas por 30 minutos em temperatura de 4°C a 6°C antes das avaliações objetivas da cor (L*, a* e b*) e pH. Em seguida, as amostras foram pesadas e assadas em temperatura controlada para a quantificação da perda por cocção e análise de força de cisalhamento. A força de cisalhamento reduziu 45% com 28 dias de maturação, sendo 12 dias considerado suficientes para que parte das amostras passassem de duras para macias. A perda por cocção teve um aumento de 3,8% com 28 dias de maturação, tendo crescimento acelerado até o 6º dia. A luminosidade teve crescimento até o 21º dia, representando neste período um crescimento 8,6%, sendo o maior valor observado no 18º dia. Com relação às cores, o valor de vermelho e amarelo tiveram um rápido aumento até o 6º dia de maturação, tendo uma queda sutil e contínua até o 15º dia. A partir dos resultados obtidos, é possível concluir que a maciez da carne aumenta progressivamente com o tempo de maturação até 28 dias e a força de cisalhamento da carne avaliada 3 dias após o abate apresenta uma maior correlação com a força de cisalhamento avaliada em tempos subsequentes.

Palavras-chave: Degradação proteica. Maciez. Qualidade de carne.

MIZUNO, Y. **Effect of aging period on meat quality of non-castrated Nellore cattle.** 2020. 51 f. M.Sc. Dissertation - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the effect of different maturation times on the qualitative traits of Nelore cattle. Nine samples of the *Longissimus* muscle were collected from 59 non-castrated male bovines, with a mean age of 24 months, 510 kg live weight and confined for an average period of 95 days. Each sample was designated at a maturation time totaling nine (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 and 28 days) distinct periods, where each sample was individually vacuum packed and held in cold storage (0 - 2 ° C). At each maturation period, samples were removed from the package and exposed for 30 minutes at 4 ° C to 6 ° C before objective color evaluations (L *, a * and b *) and pH. Then, the samples were weighed and roasted in controlled temperature for the quantification of cooking loss and shear force analysis. The shear force reduced 45% with 28 days of aging, 12 days was considered sufficient for the samples to go from tough to tender. The cooking loss increased by 3.8% with 28 days of maturation, having accelerated growth until the 6th day. The luminosity increased until the 21st day, representing an 8.6% growth in this period, the highest value observed on the 18th day. Regarding colors, the red and yellow values had a rapid increase until the 6th day of aging, having a subtle and continuous drop until the 15th day. From the results obtained, it is possible to conclude that the meat tenderness increases progressively with the maturation time up to 28 days and the shear force of the meat evaluated 3 days after slaughter has a greater correlation with the shear force evaluated in subsequent times.

Key words: Protein degradation. Tenderness. Aging. Meat quality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura hierárquica do músculo esquelético	14
Figura 2. Formas redox da mioglobina em carnes frescas.....	18
Figura 3. Efeito do tempo de maturação na força de cisalhamento de animais com diferentes graus de sangue zebuíno	23
Figura 4. Médias de quadrados mínimos dos valores de pH em função do tempo de maturação	32
Figura 5. Médias de quadrados mínimos dos valores de força de cisalhamento em função do tempo de maturação.....	33
Figura 6. Distribuição das classes de maciez em função do tempo de maturação	34
Figura 7. Médias de quadrados mínimos dos valores de perdas por cocção em função do tempo de maturação	34
Figura 8. Médias de quadrados mínimos dos valores de L* em função do tempo de maturação	35
Figura 9. Médias de quadrados mínimos dos valores de a* em função do tempo de maturação	35
Figura 10. Médias de quadrados mínimos dos valores de b* em função do tempo de maturação	36

Lista de tabelas

Tabela 1. Análise descritiva das características das carcaças e erro padrão da média (EPM), dos animais utilizados.	29
Tabela 2. Coeficientes de correlação de Pearson e valores P entre características avaliadas no animal vivo e após o abate com características de qualidade da carne.	37
Tabela 3. Coeficientes de correlação de Pearson, entre as medidas de força de cisalhamento, obtidas em diferentes tempos de maturação.	38

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1. QUALIDADE DA CARNE	12
2.1.1. MACIEZ.....	13
2.1.1.1. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA MACIEZ DA CARNE.....	15
2.1.2. COR	17
2.1.3. PERDAS POR COCÇÃO.....	18
2.2. FATORES QUE INFLUENCIAM NA QUALIDADE DE CARNE	19
2.2.1. RIGOR MORTIS.....	19
2.2.2. O PROCESSO DE MATURAÇÃO PÓR-MORTE.....	20
2.2.2.1. EFEITO DA MATURAÇÃO SOBRE A MACIEZ.....	22
2.2.2.2. EFEITO DA MATURAÇÃO SOBRE O PH.....	24
2.2.2.3. EFEITO DA MATURAÇÃO SOBRE A PERDAS POR COCÇÃO	25
2.2.2.4. EFEITO DA MATURAÇÃO SOBRE A COR.....	26
3. OBJETIVO.....	28
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1. ANIMAIS E AMOSTRAS.....	29
4.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	30
4.2.1. COR E PH.....	30
4.2.2. PERDAS POR COCÇÃO E FORÇA DE CISALHAMENTO	30
4.2.3. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	31
5. RESULTADOS.....	32
5.1. TEMPO DE MATURAÇÃO	32
5.2. CORRELAÇÕES	37
6. DISCUSSÃO.....	39
7. CONCLUSÃO	42
8. REFERÊNCIAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

A carne é um alimento que faz parte da dieta humana há milhares de anos, pois é uma fonte concentrada de nutrientes como proteínas, lipídeos, vitaminas, e minerais essenciais à saúde, sendo considerada, portanto, essencial ao crescimento e desenvolvimento humano (Higgs, 2000). Além de seu valor nutricional, a carne também é apreciada por suas propriedades sensoriais, que envolvem principalmente características como maciez, suculência e sabor. Entre elas, a maciez é o atributo sensorial mais importante que influencia a aceitação pelos consumidores, a satisfação alimentar geral e as decisões de compra (Shackelford et al., 2001). Além disso, a maciez é a característica de maior importância pois entre as variáveis sensoriais, é a que apresenta maior variabilidade (Koohmaraie et al., 1992).

A maciez é uma característica complexa, pois depende da interação de múltiplos fatores pré e pós-abate e pode-se dizer que a maciez é um atributo apenas conhecida no momento em que a carne é consumida.

Em busca de se obter uma carne com maior padronização em relação a maciez, diversas práticas têm sido utilizadas pelos produtores e pela indústria, que envolvem desde a identificação e seleção genética de animais com maior potencial para produção de carne macia, práticas de produção e manejo que possibilitem o abate de animais jovens e com adequada quantidade de gordura, além de técnicas como estimulação elétrica das carcaças, resfriamento controlado e maturação dos cortes.

Entre elas, a maturação é uma técnica bastante utilizada pela indústria, porém ela não é completamente eficiente para sobrepor os efeitos dos demais fatores e garantir uma carne macia. Estudos prévios demonstram que cerca de 20% da variação na maciez da carne maturada é explicada pela quantidade de gordura intramuscular e teor de colágeno e o restante (80%) está relacionada a diferenças no metabolismo pós-abate, o que pode justificar, em parte, o fato da maturação não ser suficiente para garantir a maciez final da carne (Koohmaraie, 1992).

Variações no grau de amaciamento decorrente do processo de maturação já foram claramente demonstrados na literatura, pois estão relacionados com fatores como as raças, a condição sexual, idade, tempo de maturação, entre outros. Estudos indicam que os principais efeitos da maturação ocorrem entre o 3º e 7º dia após o abate (Koohmaraie & Geesink, 2006), porém existe uma grande variabilidade entre

raças e entre animais.

Estudos prévios já demonstraram que essa variabilidade é importante em animais zebuínos (*Bos indicus*), os quais são reconhecidos como produtores de carnes menos macias, quando comparados aos *Bos taurus*, e como esses animais formam a base do rebanho bovino brasileiro, possuem uma relevância para o mercado consumidor nacional e internacional, uma vez que o país é um dos maiores produtores e exportadores de carne bovina

Dessa forma, o estudo das variações na maciez e de outras características de qualidade ao longo do período de maturação é importante para o melhor entendimento de como ela se desenvolve, possibilitando o aperfeiçoamento da aplicação dessa ferramenta (maturação), visando obter produtos com maior padronização e qualidade para os consumidores.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. QUALIDADE DA CARNE

Para atender a diversificada demanda de carne bovina pelo mercado consumidor, é necessário identificar quais os fatores considerados decisivos pelo comprador no momento da compra. Segundo Ramalingam et al. (2019), a decisão de compra da carne bovina é levada pela percepção de alimento saudável e características sensoriais como cor, maciez, suculência, aroma ou sabor. A qualidade da carne fresca indica sua possível utilização e aceitabilidade após o preparo e as características mais importantes são cor, capacidade de retenção de água, textura e quantidade de gordura (gordura intramuscular/ gordura intermuscular/ gordura subcutânea). Por outro lado, no momento do consumo da carne já preparada, a maciez, o sabor e a suculência são mais importantes (Joo et al., 2013).

A percepção sobre a qualidade da carne pelo consumidor não é universal, mas uma função entre fatores intrínsecos e extrínsecos (Troy & Kerry, 2010). De acordo com Hocquette et al. (2012), as qualidades físicas intrínsecas da carne são associadas à cor, forma, aparência, maciez, suculência e sabor e, segundo Olson (1977), são características específicas de cada produto e só podem ser alteradas com mudanças da natureza física da própria carne. Já os atributos extrínsecos, são associados às características que podem ser alteradas sem mudanças nas propriedades físicas do produto, e que também possuem grande participação no momento de escolha do consumidor, como a marca, preço, embalagem e as alegações de saúde do produto (Jaeger, 2006). Nesse sentido, com o intuito de transmitir a qualidade intrínseca do produto para o consumidor, a cadeia produtiva vem aumentando o interesse por técnicas que possibilitem predizer e garantir aos consumidores, a qualidade final da carne (Jorquera et al. 2019).

Para alcançar a qualidade desejada, é preciso conhecer os diversos fatores que alteram as características da carne. Segundo Joo et al. (2013), a qualidade da carne depende de fatores como estrutura do músculo, composição química, ambiente químico, interação entre os constituintes químicos, mudanças pós-morte nos tecidos musculares, estresse, efeitos pré-abate, manuseio do produto, processamento, armazenagem, contagem e população microbiológica, entre outros. Os mesmos autores afirmam que em particular, a qualidade da carne fresca é relacionada com as características das fibras do músculo, que por sua vez variam entre raça (Ryu et al.,

2008), sexo, dieta (Venkata Reddy et al., 2015), manejo pré e pós-abate (Maher et al., 2004), métodos de armazenamento (Ha et al., 2019) e de cozimento (Ismail et al., 2019).

2.1.1. MACIEZ

A maciez é reconhecidamente uma característica multifatorial (Gagaoua et al., 2018) e apresenta maior importância em carnes vermelhas, como a bovina e a ovina, pois possuem maior quantidade de fibras vermelhas e tecido conjuntivo em sua composição, quando comparados com as carnes de aves e suínos (JOO et al., 2013). A maciez depende das propriedades estruturais e da bioquímica dos músculos que se desenvolvem e evoluem ao longo da vida do animal, sob a influência de fatores relacionados ao próprio animal (idade, sexo, raça) e o modo de criação (Gagaoua et al., 2019).

Segundo Hopkins & Geesink (2009), os três principais fatores envolvidos no processo que determina a maciez da carne são a quantidade e solubilidade do colágeno, o grau de encurtamento do músculo e a maturação da carne.

Segundo McCormick (1994), o colágeno é o constituinte mais abundante do tecido conjuntivo, sendo um importante fator que contribui para a textura da carne. O tecido conjuntivo no músculo esquelético é dividido no endomísio, que envolve cada fibra muscular, o perimísio, que envolve feixes de fibras musculares e o epimísio, que envolve o músculo como um todo (Listrat, et al., 2016). Cada fibra muscular consiste em um grande número de filamentos únicos chamados miofibrilas, as quais são constituídas por miofilamentos baseados em filamentos finos e grossos, predominantemente compostos de actina e miosina, respectivamente (Figura 1).

Figura 1. Estrutura hierárquica do músculo esquelético.

Fonte: Gotti, C., Sensini, A., Zucchelli, A., Carloni, R., & Focarete, M. L. (2020). Hierarchical fibrous structures for muscle-inspired soft-actuators: A review. **Applied Materials Today**, 20, 100772.

Segundo McCormick (1994), o colágeno existente no músculo é predominantemente formado pelo tipo I e III, sendo que mais de 90% do colágeno intramuscular se localiza no perimísio. Sua proporção varia de acordo com a idade dos animais, o tipo de músculo, o gênero, a taxa da síntese do colágeno e o perfil de ligações cruzadas. Essas ligações são formadas por duas ou três moléculas de colágeno, originadas da condensação da lisina, dos resíduos de hidroxilisina e de seus aldeídos. Animais mais velhos apresentam maior quantidade de colágeno tipo I e ligações cruzadas, que são responsáveis pela maior dureza da carne desses animais (McCormick, 1994; Nishimura, 2010).

O tecido conjuntivo intramuscular, que é principalmente composto por proteínas de colágeno e elastina circundadas por uma matriz de proteoglicano, sempre foi considerado imutável durante o período de maturação e, portanto, não participando das alterações que levam o amaciamento da carne (Purslow 2005), porém, novos estudos indicam uma possível participação no aumento da maciez da carne maturada. Nishimura (2010) sugeriu que ocorre uma degradação do tecido conjuntivo por collagenases naturais como a metaloproteinases de matriz e/ou enzimas lisossomais como a β -glucuronidase durante a maturação por um período prolongado, porém, o mecanismo exato da alteração da integridade do tecido conjuntivo e a quantidade

durante a maturação e sua relação com o desenvolvimento da maciez em carnes cozidas ainda não é claro.

2.1.1.1. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA MACIEZ DA CARNE

Existem diferentes métodos para avaliação da maciez da carne, sendo os mais comuns a avaliação por painel sensorial, utilizando painelistas/provadores treinados ou consumidores (não-treinados) e a avaliação por meio da força de cisalhamento, utilizando um equipamento que determina objetivamente a força necessária para romper uma amostra de carne.

As avaliações por painel sensorial, é considerado o melhor “processador”, pois é o único capaz de agregar conhecimentos técnicos e científicos a valores culturais e socioeconômicos, fundamentais para a comercialização de produtos alimentares (Teixeira, 2009). O mesmo autor relatou ainda que, na indústria alimentícia, a análise sensorial por painel treinado é responsável por avaliar a aceitabilidade mercadológica e a qualidade do produto, fazendo parte do plano de controle de qualidade. Seu uso tem sido justificado com base em três argumentos, acuidade sensorial, confiabilidade e eficiência de custos (Moskowitz, 1996). Porém, há algumas desvantagens importantes a serem pontuadas em relação ao uso de painel sensorial treinado. Os autores Newman et al., (2014), relataram que é necessário um longo período de tempo para se treinar os painelistas até que se produza resultados consistentes e reproduzíveis, o que torna o método caro e às vezes impraticável para empresas onde muitos tipos diferentes de produtos precisam ser estudados rapidamente (Kim et al., 2018).

Já o uso do painel sensorial não treinado, possui maior facilidade de aplicação sendo possível um maior número de avaliadores. Porém, alguns autores apontam que o uso de painelistas não treinados, podem gerar resultados não consistentes. De acordo com Stone & Sidel (2004), cerca de 30% das pessoas que se voluntariam para participar de um painel sensorial não atingem o nível mínimo de sensibilidade e confiabilidade, além disso, Lawless & Heymann, (2010) apontaram que o painel avaliado por consumidores, agem em um “estado de espírito não analítico” e por não terem conhecimento suficiente sobre atributos específicos, ficam confusos.

Em virtude de algumas limitações da avaliação por painel sensorial, a

determinação da força de cisalhamento tem sido o método amplamente utilizado visando determinar a maciez da carne de forma rápida e objetiva. Nesse sentido, diversos estudos têm tentado estabelecer classes de maciez que estimem da maneira mais fidedigna possível, a percepção dos consumidores (Destefanis et al., 2008; Shackelford et al., 1997; Rodas-González et al., 2009; Huffman et al., 1996; Boleman et al., 1997), porém os resultados também têm sido variáveis.

É importante ressaltar que esse método apenas mede a força necessária para romper uma determinada amostra de carne, porém não considera a interação entre outras características que ocorre durante o processo de mastigação pelos consumidores.

Alguns autores estabeleceram valores de força de cisalhamento medido pelo aparelho para facilitar a classificação. Destefanis et al. (2008), estabeleceram 5 classes de maciez pelo aparelho Warner–Bratzler shear, e testaram 220 consumidores que avaliaram 60 amostras classificadas como: grupo 1 – Muito Macia ($FC < 32,96$ N), grupo 2 – Macia ($32,96$ N $< FC < 42,77$ N), grupo 3 – Intermediária ($42,87$ N $< FC < 52,68$ N), grupo 4 – Dura ($52,78$ N $< FC < 62,59$ N) e grupo 5 – Muito Dura ($FC > 62,59$ N). Os autores observaram que, os consumidores não conseguiram diferenciar a carne Muito dura da Dura, e a categoria de carne Muito Macia da Macia. Portanto, os autores reduziram a variedade de classificação para 3 grupos, unindo os extremos, grupo 1 com 2 e o grupo 4 com 5. Neste caso, 55,6% dos consumidores conseguiram significativamente discriminar a carne dura da intermediária e macia, e 62,3% discriminaram a carne macia da intermediária e dura ($P < 0,01$). Concluíram que as classificações Macia $< 42,87$ N, Intermediária $42,87 - 52,68$ e Dura $> 52,68$ N, permitem distinguir se uma carne é dura ou macia.

Já Boleman et al. (1997), classificaram a maciez como: macia $2,27 - 3,58$ kg ($22,26 - 35,11$ N); intermediária $4,08 - 5,40$ kg ($40,01 - 52,96$ N) e dura $5,90 - 7,21$ kg ($57,86 - 70,71$ N), recrutaram consumidores aleatoriamente que avaliaram as carnes e, concluíram que o painel foi capaz de diferenciar as 3 classificações de maciez criada, além disso, os consumidores pontuaram a carne macia como sendo mais saborosa e com melhor aroma em relação às demais categorias, a satisfação geral também foi maior para esta classe.

Shackelford et al. (1997) criaram a classificação: macia $< 6,0$ kg ($58,84$ N), intermediária $6,0 - 9,0$ kg ($58,84$ N; $88,26$ N) e dura $> 9,0$ kg ($88,26$ N). Os autores escolheram 6 kg como marco entre macio e intermediário pois, a regressão do painel

sensorial treinado do próprio laboratório indicou que a força de cisalhamento de 6 kg (com 1 ou 2 dias pós morte) era classificada como levemente macia e que ao 14º dia de maturação, se tornaria macia. O limite de 9 kg para intermediária e dura foi estabelecida pois, a carne que apresentava força de cisalhamento de 9 kg (com 1 ou 2 dias pós morte), teria a força de cisalhamento de 6 kg após o 14º dia de maturação, o que foi apontado por regressão.

De acordo com Wheeler et al. (1997), a diferença na classificação entre os autores se deve à diferença entre protocolos, execução e a variação dos instrumentos, mas que podem chegar ao mesmo valor e repetibilidade se estabelecido e corretamente executado um protocolo e os equipamentos estiverem devidamente calibrados.

2.1.2. COR

A cor da carne é um dos fatores visuais mais importantes na decisão de compra do consumidor, sendo vermelho cereja classificada como a mais fresca e saudável. Assim como a maciez, a cor é influenciada por muitos fatores como, concentração de mioglobina, estado químico da mioglobina e a dispersão de luz (Kim et al., 2014).

Segundo Mancini & Hunt (2005), a forma nativa da mioglobina é não-oxidada (desoximioglobina), que tem a cor vermelha púrpura, ocorrendo em carnes embaladas a vácuo ou recém cortadas, quando estão na ausência de oxigênio. À medida que ela entra em contato com o oxigênio ocorre a formação da oximioglobina, que tem a cor vermelha cereja brilhante. A descoloração da carne, é resultante da oxidação do ferro contido na mioglobina resultando em metamioglobina (Wallace et al., 1982), tornando a carne com uma cor amarronzada.

Em carnes frescas embaladas, a mioglobina também pode estar na forma de Caboximioglobina, que é formada pela ligação da deoximioglobina com o monóxido de carbono (Figura 2), a qual também apresenta a cor vermelha cereja (Suman & Joseph, 2013). A utilização de monóxido de carbono em carnes embaladas a vácuo, tem como principal objetivo manter a cor vermelha cereja, que é mais atraente para o consumidor. Sakowska et al. (2016), afirmaram que carnes embaladas a vácuo expostas ao monóxido de carbono antes de serem embaladas, podem manter a cor vermelho cereja por mais de 21 dias.

Figura 2. Formas redox da mioglobina em carnes frescas.

Fonte: Suman, S. P., & Joseph, P. (2013). Myoglobin chemistry and meat color. **Annual review of food science and technology**, 4, 79-99.

2.1.3. PERDAS POR COCÇÃO

Durante o cozimento a carne perde líquido, no que resulta em mudanças de textura e perda no rendimento após o cozimento (Purslow et al., 2016). O músculo é composto aproximadamente por 75% de água, 20% de proteínas, 5% de lipídeos, 1% de carboidratos e vitaminas, e 1% de minerais (frequentemente analisados como cinzas). A maior parte da água contida nos músculos está localizada entre as próprias miofibrilas, entre as miofibrilas e a membrana celular (sarcolema), entre as células musculares e entre os feixes musculares (grupos de células musculares) (Offer & Cousins, 1992).

As propriedades de hidratação da carne, expressadas pela capacidade de retenção de água, "press juice" e perda por cocção, determina a habilidade de reter água durante o processamento, essas propriedades influenciam a maciez, firmeza e aparência da carne (Offer et al, 1989).

Para o consumidor, a maciez, a suculência e o sabor são os principais fatores que influenciam a escolha e aceitação da carne cozida (Creed, 1995). Aaslyng et al. (2003), relataram que a suculência experimentada inicialmente no processo mastigatório depende apenas do teor de água da carne, enquanto a suculência vivenciada posteriormente no processo de mastigação é determinada pela

combinação dos teores de água e gordura intramuscular e da produção de saliva durante a mastigação.

2.2. FATORES QUE INFLUENCIAM NA QUALIDADE DE CARNE

Como mencionado anteriormente, a qualidade da carne é influenciada por uma série de fatores relacionados ao próprio animal, às práticas de manejo utilizadas durante sua produção até o abate, além daquelas utilizadas pela indústria após o abate. Neste estudo será enfatizado o efeito da maturação pós-morte, sobre as características de qualidade, como maciez, cor, perdas por cocção e pH.

2.2.1. RIGOR MORTIS

Enquanto o animal está vivo e sob condições normais, os músculos cumprem funções específicas, de acordo com sua funcionalidade. Porém, após o abate os músculos passam por várias alterações biofísicas e químicas que culminam a sua conversão em carne, que é utilizada como uma importante fonte de alimento aos seres humanos (Greaser, 1986).

Esse processo pode ser dividido em três fases: a primeira chamada de pré-rigor, em que o teor de colágeno é o principal determinante da “dureza” da carne; a segunda, chamada de rigor, em que ocorre um endurecimento adicional devido ao encurtamento do músculo, e a terceira é a fase de amaciamento ou resolução, em que o músculo passa por uma série de alterações, sendo observado um aumento notável na maciez da carne (Bhat et al., 2018).

Após o abate do animal, o fluxo sanguíneo é interrompido, cessando o aporte de oxigênio e nutrientes às células do tecido muscular (Ordóñez et al., 1998). Com a interrupção da circulação sanguínea, os produtos das reações metabólicas não são removidos, aumentando, portanto, a sua concentração (Honikel, 2014). Para manter a homeostase, as células tentam manter o nível de ATP a qualquer custo, pois este é o principal composto de alta energia essencial responsável por realizar diversas reações metabólicas, além do transporte de íons (Greaser, 1986). Inicialmente a síntese de ATP é feita pela creatina-fosfato, em seguida pela glicogenólise e por último, pela glicólise (Warner, 2016). A creatina-fosfato contém um grupo fosfato que

é transferido para o ADP por meio de uma enzima conhecida como creatina quinase (creatina fosfato + ADP + H⁺ ↔ creatina + ATP). Essa reação consome um íon de hidrogênio e está em equilíbrio, pois a mudança na energia livre com essa reação é muito próxima de zero in vivo (Ferguson & Gerrard, 2014).

Após o abate, a concentração de creatina fosfato é reduzida em até 75% entre 1-2 horas seguida da produção de ATP. Em seguida, a creatina fosfato desaparece, a concentração de fósforo inorgânico aumenta e o lactato se acumula concomitantemente com o aumento da concentração de íons de hidrogênio. O *rigor mortis* é definido pelo declínio do ATP a zero, perda total de extensibilidade e o platô da produção de ácido láctico (Warner, 2016).

Após o esgotamento de ATP no músculo, ocorre aumento gradual do cálcio livre no citosol devido ao vazamento para o sarcoplasma acompanhado pela perda da capacidade de acumulação de cálcio do retículo sarcoplasmático e das mitocôndrias (Ertbjerg & Puolanne, 2017).

A queda do pH no músculo pós-morte foi por muito tempo atribuído ao acúmulo do ácido láctico, porém, esta questão vem sendo desmistificada. Robergs & Parker (2004), apontaram que a produção de lactato aumenta sob condições de anoxia para evitar o acúmulo de piruvato e fornecer o NAD⁺ necessário para a fase 2 da glicólise. Se o NADH não for oxidado, a glicólise para prematuramente ou prossegue a uma taxa extremamente reduzida (Westerblad et al., 2002).

Os mesmos autores afirmam ainda que, durante a redução do piruvato em lactato, um hidrogênio do NADH e um hidrogênio da solução são removidos do citoplasma, ou seja, se a glicólise prosseguisse sem a formação de lactato, a concentração de H⁺ aumentaria mais rapidamente, diminuindo o pH mais rapidamente. Sob condições anaeróbicas, o produto final, piruvato, é convertido em lactato. O H⁺ é liberado durante as etapas iniciais, quando o ATP é "investido", bem como na reação catalisada pela gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase, o H⁺ é consumido durante a etapa de colheita do ATP catalisada pela piruvato-quinase e na produção de lactato.

2.2.2. O PROCESSO DE MATURAÇÃO PÓS-MORTE

As reações ocorridas durante a transformação do músculo em carne, alteram as características do meio, levando a ativação de enzimas proteolíticas, que atuam principalmente na desmina, titina, nebulina e troponina-T, que são responsáveis pela maior parte do amaciamento da carne que se desenvolve durante a maturação (Hopkins & Geesink., 2009).

Quali A. (1992) identificou os três principais sistemas proteolíticos endógenos, responsáveis pela maturação da carne: (i) sistema das calpaínas cálcio-dependentes (μ -calpain, m-calpain e calpastatina-inibidor); (ii) catepsinas lisossomais (catepsinas B, D, H e L) e o complexo ubiquitina-proteassoma (também conhecida como proteinase multicatalítica). O sistema das calpaínas são as principais envolvidas no processo de proteólise (Hwang et al., 2003). As calpaínas pertencem à família de cisteína não lisossomais e sua ativação depende do íon de cálcio, sendo sua atividade controlada por seu inibidor, calpastatina (Goll et al., 2003).

As calpaínas foram descobertas devido ao desaparecimento dos discos Z do músculo estriado quando incubados em uma solução contendo Cálcio, nenhuma outra alteração ultraestruturalmente foi detectada (Busch et al., 1972). Estudos subsequentes mostraram que a incubação do músculo estriado ou miofibrilas com μ ou m-calpaína purificada na presença de Cálcio causou a remoção completa dos discos Z no músculo estriado e uma perda de periodicidade ao longo de filamentos finos sem produzir qualquer alteração ultraestruturalmente detectável nos próprios filamentos grossos ou finos (Reville et al., 1976).

Segundo Geesink (2006), a m-calpaína necessita de uma grande quantidade de cálcio para sua ativação, portanto apresenta pequena importância na maciez da carne, semelhante ao que ocorre com a calpaína 3. Segundo Goll et al. (1992), é necessário entre 5 a 65 μM Ca^{2+} para que a μ -calpaína atinja a metade máxima de sua atividade, enquanto a m-calpaína necessita de 300 a 1000 μM Ca^{2+} para atingir a metade máxima de sua atividade. As μ -calpaínas possuem a habilidade de catalisar a degradação da titina, nebulina, filamina, desmina e troponina-T em vários compostos produzidos naturalmente pelas miofibrilas em processo de maturação (Huff-Lonergan et al., 2010).

A maturação pós-morte é uma das principais ferramentas utilizadas pela indústria para aumentar a maciez da carne, e consiste no armazenamento da carne em embalagem a vácuo em temperaturas de 0 a 2 °C por um determinado período de tempo. A legislação brasileira estabelece os cortes maturados deverão,

obrigatoriamente, serem embalados a vácuo em películas de alta resistência mecânica, impermeáveis a gases e ao vapor d'água e mantidos em câmara frigorífica com temperatura entre -1 °C a 0 °C, por um período mínimo de 15 e máximo de 20 dias (Brasil, 1988).

Sob essas condições, ocorre a ativação das enzimas proteolíticas endógenas, responsáveis pela degradação das fibras do músculo, e embora a maturação seja amplamente praticada pela indústria de carne devido a seus benefícios no produto final, ela também possui algumas considerações econômicas importantes a serem avaliadas, como o tempo, espaço, trabalho e energia que são demandados (Bhat et al., 2018).

2.2.2.1. EFEITO DA MATURAÇÃO SOBRE A MACIEZ

Whipple et al. (1990), relataram que a maciez durante a fase de maturação pode ser explicada com base na quantidade de calpastatina contida na carne e, a quantidade de cálcio necessária para permitir a metade da ligação máxima da calpastatina às calpaínas é geralmente menor do que a necessária para metade da atividade máxima das formas não-autolisada e autolisada de calpaina-m e μ -calpaina (Kapprell & Goll, 1989). Koohmaraie (1992) relatou a existência de uma correlação entre a alta força de cisalhamento e a alta atividade de calpastatina no período de amaciamento. Uma molécula de calpastatina pode inibir muitas outras moléculas de calpaínas, pois ela possui múltiplos sítios inibidores (Otsuka & Goll, 1987).

Sañudo et al. (2004) relataram diferenças na maciez da carne entre animais de diferentes pesos ao abate, raças (musculatura dupla, crescimento rápido, dupla aptidão e animais sem melhoramento genético) e tempo de maturação (1, 7 e 21 dias). Da mesma forma, Johnson et al. (1990) observaram que a força de cisalhamento da carne se diferenciava em animais com maior porcentagem genética da raça Brahman. Apontaram que a maciez da carne diminuía conforme a porcentagem da raça Brahman aumentava no animal, sugerindo que as diferenças de maciez entre as raças se deviam a diferenças na composição da fibra muscular. Os mesmos autores afirmaram ainda que, com 10 dias de maturação, o desenvolvimento da maciez foi diferente entre raças e foi observado um grande aumento na maciez da carne de animais com mais de 75% de sangue zebuino, atingindo a força de cisalhamento

semelhante a carne de animais da raça Angus não submetidos a maturação (Figura 3). Com base nessas informações, os autores sugeriram que os grupos possuíam diferentes quantidades e (ou) atividades enzimáticas proteolíticas, e que essas diferenças podem ser utilizadas como importante técnica para aumentar a maciez da carne de animais.

Figura 3. Efeito do tempo de maturação na força de cisalhamento de animais com diferentes graus de sangue zebuíno

Fonte: Johnson, D. D., Huffman, R. D., Williams, S. E., & Hargrove, D. D. (1990). Effects of percentage Brahman and Angus breeding, age-season of feeding and slaughter end point on meat palatability and muscle characteristics. **Journal of Animal Science**, 68(7), 1980-1986.

O'Connor et al. (1997) também compararam o desenvolvimento da maturação em animais *Bos indicus* e *Bos taurus*. A evolução da maturação foi avaliada em animais 3/8 *Bos indicus* e *Bos taurus* de 1 a 35 dias, não encontraram diferença no 1º dia de maturação, porém, encontraram uma grande taxa de amaciamento nas carnes de animais *Bos taurus* do 1º ao 4º dia. Para os bovinos *Bos indicus*, notaram uma taxa de amaciamento ligeiramente maior entre o 7º e 35º dia de maturação, apontaram a menor taxa de amaciamento durante os 7 primeiros dias devido à maior atividade de calpastatina. A diferença da força de cisalhamento entre os dois grupos, embora significativa, tornou-se menos pronunciada ao longo do tempo de maturação. A maturação tende a diminuir ou zerar a diferença de maciez entre as raças com períodos mais longos de maturação (Sañudo et al., 2004).

Monsón et al. (2005), também pontuaram a influência que a raça possui no processo de maturação, verificaram uma diferença significativa na maciez e na quantidade de resíduo após a mastigação. Afirmaram que, animais selecionados para carne precisam de pouco tempo de maturação, enquanto animais selecionados para outras aptidões (leite e trabalho), necessitam de maior tempo (> 21 dias) para adquirirem a mesma aceitabilidade ótima pelo consumidor. Os autores observaram que a carne de animais da raça Blonde d'Aquitaine (aptidão: trabalho) precisam de 14 dias para atingir 83% da maturação total, enquanto animais da raça Pardo Suíço (aptidão: leite e corte) atingem 89% da maturação total com o mesmo período, já os animais da raça Limousin (aptidão: corte) atingiram a maturação total em apenas 7 dias e os animais da raça Holstein (aptidão: leite) levaram 14 dias.

Além disso, via painel sensorial, os autores avaliaram a preferência das carnes em diferentes tempos de maturação e descobriram que a preferência entre as carnes maturadas diferiram entre as raças. Para as carnes dos animais Limousin e Pardo Suíço, a aceitação máxima ocorreu entre o 3º e 7º dia de maturação, enquanto para carnes dos animais de raça Blond d' Aquitaine ocorreu entre 3º e 14º dia e para os animais da raça Holstein, entre 14º e 21º dia de maturação.

O aumento da maciez durante o processo de maturação, ocorre sinergicamente com o aumento da suculência da carne (Shackelford et al., 1995), porém não é igualmente acompanhada pelo aumento dos sabores desejados. Carnes maturadas por 4 dias a 4°C aumentaram a doçura e sabor de bife das carnes, porém, a maturação prolongada aumentou qualidades indesejadas como o amargo e o azedo (Spanier et al., 1997). Os autores Wang et al. (2013) apontaram que a maturação prolongada libera ácidos graxos livres, que reagem com proteínas e outros precursores de sabor e afetam o aroma e o sabor da carne, os ácidos graxos livres são mais propensos à oxidação e podem acelerar a deterioração devido ao odor e sabor estranho, a maturação deve ser controlada para maximizar o sabor desejável e minimizar o odor e sabor estranhos.

2.2.2.2. EFEITO DA MATURAÇÃO SOBRE O PH

O pH no músculo de animais vivos possui um valor ligeiramente acima de 7,0. Após o abate, em condições normais, esse valor reduz gradualmente, até atingir um

valor ao redor de 5,5 24h depois (Tarrant, 1989). Além do acúmulo de H^+ do lactato e a hidrólise do ATP, a quebra dos nucleotídeos também gera íons de hidrogênio que resultam no declínio do pH no músculo após o abate (Warner, 2016).

Wyrwysz et al. (2016) afirmaram que o pH da carne aumenta quando maturadas por um longo período de tempo, que de acordo com Florek et al., (2007), ocorre devido ao processo de alcalinização, causado pela liberação de compostos básicos provenientes da degradação proteica. Boakye (1993), relatou que a mudança nas cargas causadas pelas enzimas proteolíticas pode elevar o pH, enquanto o uso de embalagens a vácuo, que exclui a transferência de oxigênio, pode prevenir o aumento da acidez.

Colle et al. (2016) observaram o aumento no pH em carnes maturadas por 42 e 63 dias no musculo *Longissimus lumborum*, porém não verificaram comportamento similar em amostras de *Gluteus medius* que permaneceram constantes.

2.2.2.3. EFEITO DA MATURAÇÃO SOBRE A PERDAS POR COCÇÃO

Alguns autores postulam que a maturação leva a maior perda de água durante a cocção. Huff-Lonergan et al. (2010) relataram que a degradação das proteínas musculares como desmina, troponina-T, titina e nebulina, não afetam apenas a maciez da carne, mas também alteram a quantidade de perda de água durante o processo de maturação e cozimento.

Straadt et al. (2007), observaram que após o cozimento, a carne maturada apresenta maior encolhimento das fibras musculares, assim como menor quantidade de água miofibrilar. O aumento da perda de água por cocção na carne maturada é decorrente da redução do diâmetro das células musculares e miofibrilas (Purslow et al., 2016). Os autores ainda postulam que, a desnaturação das proteínas desmina, nebulina e titina não são os principais fatores que levam a expulsão da água, mas a perda de fluídos na hora da cocção é resultante da produção de fragmentos de proteínas que são mais facilmente perdidos da estrutura durante o cozimento junto com a saída da água. O que concorda com a hipótese de Liu et al. (2015), que propôs que as proteínas sarcoplasmáticas formam uma rede entre si e com as proteínas miofibrilares, o que permite que mais água seja aprisionada na estrutura.

Wyrwusz et al. (2016), afirmaram que há maiores perdas por cocção em carnes maturadas por mais de 7 dias. Após esse período, ocorre aumento da perda de água por cocção à medida que o tempo de maturação se estende, provavelmente, em decorrência da degradação das proteínas miofibrilares pelas ação das enzimas endógenas (Mungure et al., 2016).

2.2.2.4. EFEITO DA MATURAÇÃO SOBRE A COR

A maturação a vácuo é uma prática muito utilizada mundialmente pelas indústrias pois quando o ar é removido, o efeito oxidante também é eliminado, permitindo maior tempo de maturação e retardando a descoloração e a oxidação lipídica (Jiang et al., 2010). Além disso, condições que aumentam a solubilidade do oxigênio e diminuem a atividade enzimática do tecido muscular (por exemplo, baixa temperatura e baixos valores de pH) também tornam o processo de “oxigenação” (*blooming*) mais eficiente, que ocorre mais rápido e intensamente em carnes embaladas a vácuo e maturadas por longo tempo (Lindahl, et al., 2006).

O *blooming*, se refere a mudança de coloração da carne, tornando-a mais clara e vermelha devido à oxigenação da mioglobina, que ocorre quando a superfície da carne é exposta ao oxigênio (Jacob, 2019). À medida que a exposição ao oxigênio aumenta, a oximioglobina se forma mais profundamente nas camadas internas da carne, sendo a espessura dessa camada dependente da temperatura, pressão parcial de oxigênio, pH e competição de oxigênio por outros processos respiratórios (Mancini & Hunt, 2005). Wyrwusz et al. (2016), apontaram que quanto mais rápida a carne obtiver a cor vermelha cereja estável, maior será sua maciez.

Suman et al. (2014), sugeriram que a maturação inativa enzimas que competem por oxigênio, o que acelera o *blooming* em carnes com maior tempo de maturação, aumentando assim a luminosidade (L^*), vermelhidão (a^*) e croma (c^*). O aumento no índice de luminosidade em carnes maturadas pode ser explicado por meio da degradação proteica que leva o enfraquecimento da estrutura das fibras do músculo o que resulta em maior dispersão de luz, elevando, conseqüentemente, o valor de L^* (Offer et al, 1989). Já Mancini & Ramanathan (2014), sugeriram que a melhora na intensidade da cor dos bifes se deve a redução da atividade mitocondrial

nas carnes com maiores tempos de armazenamento, devido a diminuição da competição por oxigênio entre mioglobina e mitocôndria.

Há estudos que indicam a redução na qualidade visual da carne após um longo período de maturação. Kim et al. (2011), afirmaram que, assim como o desenvolvimento de sabores não desejados, a maturação por um longo período pode descolorir e impactar negativamente a oxidação lipídica da carne.

3. OBJETIVO

Este trabalho foi desenvolvido para avaliar o efeito do tempo de maturação sobre características relacionadas a qualidade da carne como maciez, cor, perdas por cocção e pH de bovinos Nelore.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), sediada na cidade de Pirassununga – São Paulo.

As amostras utilizadas neste projeto foram colhidas após do abate de animais de outro projeto de pesquisa, aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (Protocolo 7957310817).

4.1. ANIMAIS E AMOSTRAS

Foram colhidas amostras do músculo *Longissimus dorsi* de 59 bovinos machos não-castrados, da raça Nelore, com idade média de 24 meses e 510 kg de peso vivo, provenientes do rebanho da Universidade de São Paulo de Pirassununga/SP. Os animais foram confinados por um período médio de 95 dias (90 – 101 dias) recebendo uma dieta contendo 35% de volumoso e 65% de concentrado. Ao final do período experimental foram abatidos no Frigorífico Escola da USP, em Pirassununga/SP.

O abate foi realizado de acordo com procedimentos humanitários, conforme exigido pela legislação brasileira. As características de carcaças dos animais utilizados para o experimento encontram se na Tabela 1.

Tabela 1. Análise descritiva das características das carcaças e erro padrão da média (EPM), dos animais utilizados.

Variáveis	n	Média	Mínimo	Máximo	EPM
Peso de abate, kg	59	560,9	482,0	635,0	4,59
Peso de carcaça quente, kg	59	318,2	275,9	360,9	2,58
Espessura de gordura subcutânea, mm	59	2,8	0,8	7,3	0,17
Área de olho de lombo, cm ²	59	71,6	55,5	89,4	1,13

Após 24h de resfriamento (0 – 2 °C), as meias-carcaças esquerdas foram divididas na região entre a 12ª e a 13ª costelas, para retirada de nove amostras

do músculo *Longissimus dorsi* (2,5 cm de espessura) no sentido craniocaudal. As amostras foram identificadas e embaladas a vácuo individualmente, respeitando uma sequência previamente estabelecida, onde cada amostra foi designada a um tempo de maturação, totalizando nove (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 28 dias) períodos distintos. As amostras foram mantidas em câmara fria (0 – 2 °C) até que fossem realizadas as análises nos dias designados.

4.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.2.1. COR E PH

Após cada período de maturação, as amostras foram retiradas da embalagem a vácuo e deixadas expostas por 30 minutos em temperatura de 4°C a 6°C, dentro de expositor refrigerado, conforme metodologia descrita pela *American Meat Science Association* – AMSA (1995). Em seguida, foi realizada uma avaliação objetiva da cor da carne utilizando o sistema CIE L*a*b* (CIE, 1986) através de um espectrofotômetro portátil, modelo CM2500d (Konica Minolta Brasil, São Paulo, Brasil) com iluminante padrão A, ângulo de observação de 10° e abertura de 5 cm. As medidas realizadas em três diferentes pontos da amostra e os valores finais de L* (luminosidade), a* (intensidade de vermelho) e b* (intensidade de amarelo) foram obtidos média de três medidas.

Após a avaliação de cor, o pH foi mensurado utilizando um peagômetro digital portátil (Hanna Instrumentos – modelo HI99163, São Paulo, Brasil).

4.2.2. PERDAS POR COCÇÃO E FORÇA DE CISALHAMENTO

As perdas de água por cocção (PPC) e a força de cisalhamento (FC) foram realizadas conforme metodologia proposta pela *American Meat Science Association* – AMSA (1995).

As amostras foram pesadas e assadas em um forno elétrico industrial (Modelo F130/L – Fornos Elétricos Flecha de Ouro Ind. e Com. Ltda., São Paulo, Brasil) com temperatura controlada (170°C). O monitoramento da temperatura interna das amostras foi realizado por termômetros individuais (Gulton Instrumentos de Medição e Automação Indústria e Comércio LTDA – Modelo

Gulterm 700-10s, São Paulo, Brasil). Para manutenção de um cozimento uniforme, os bifes foram virados ao atingir 40 °C e aos 71 °C retirados do forno. As amostras foram resfriadas em temperatura ambiente (23 °C), pesadas para a quantificação da perda por cocção ($PPC = \text{peso da amostra crua} - \text{peso da amostra assada}$), embaladas em filme plástico e em seguida, armazenados em geladeira comum (4 °C – 6 °C) por 24 horas para posterior análise de força de cisalhamento.

Para mensuração da FC, foram retirados 6 cilindros (1,27 cm de diâmetro) dos bifes, no sentido paralelo ao das fibras, os quais foram cisalhados utilizando um equipamento TMS-PRO analisador de textura (Food Technology Corporation, Sterling, Virginia, USA) acoplado com um dispositivo de cisalhamento Warner–Bratzler com velocidade fixada em 200 mm/min. A FC foi medida em Newton (N) e considerada a média das repetições de cada amostra.

4.2.3. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Inicialmente foram realizadas análises exploratórias para identificação de dados atípicos (*outliers*). O efeito do tempo de maturação sobre as características de qualidade da carne, foram avaliados por meio de contrastes, utilizando o procedimento *Mixed* do software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). O dia do abate foi utilizado como efeito aleatório. Quando foi observado efeito significativo do tempo, as médias foram comparadas pelo teste t de *Student*.

Os valores de FC foram agrupados em classes de maciez, de acordo com os valores apresentados por Destefanis et al. (2008), em: Macia ($FC < 42,87$ N); Intermediária ($42,87 < FC < 52,68$) ou Dura: ($FC > 52,68$). Com base nessa classificação foram calculadas as percentagens de cada classe em função do tempo de maturação.

Adicionalmente, foram realizadas análises de correlações para determinar possíveis relações entre as variáveis estudadas.

5. RESULTADOS

5.1. TEMPO DE MATURAÇÃO

Foi observado efeito do tempo de maturação sobre o pH da carne ($P < 0,0001$; Figura 4), sendo observadas associações lineares ($P < 0,0001$) e quadráticas ($P < 0,0001$). Não houve diferença nos valores de pH nos dias 0 e 3, havendo um aumento nos períodos de maturação seguintes.

A FC apresentou também uma associação linear ($P = 0,001$) e quadrática ($P < 0,0001$) ao longo do tempo de maturação, com redução dos valores à medida que aumentou o tempo de maturação (Figura 5). Houve uma diferença significativa na força de cisalhamento entre as médias de todos os dias subsequentes desde o dia 0 (amostra não-maturada) até 12 dias de maturação ($P < 0,05$), caracterizando uma queda mais acentuada nesse período. Após 12 dias de maturação, a FC continuou diminuindo até o dia 28, porém em taxas menores, sem diferença significativa entre dias consecutivos.

Figura 4. Médias de quadrados mínimos dos valores de pH em função do tempo de maturação.

* Área sombreada em verde representa a variação entre valores máximos e mínimos.

^{a,b} Letras diferentes indicam diferença entre as médias pelo teste t de *Student* ($P<0,05$).

Fonte: própria autoria.

Figura 5. Médias de quadrados mínimos dos valores de força de cisalhamento em função do tempo de maturação.

* Área sombreada em verde representa a variação entre valores máximos e mínimos.

Fonte: própria autoria.

Nas avaliações realizadas nos dias 0 (24h após o abate) e 3, 88% das amostras foram classificadas como duras e 12% como intermediárias (Figura 6) e nenhuma amostra foi considerada macia. No 6º dia houve uma redução de 34% das amostras duras e 17% das amostras foram classificadas como macias. A partir de então, a percentagem de amostras consideradas duras foi reduzida, chegando a 2% aos 28 dias, enquanto a de amostras macias aumentou atingindo 93% aos 28 dias.

As perdas por cocção foram associadas de forma linear ($P<0,0001$) e quadrática ($P<0,0001$) com o tempo de maturação (Figura 7). Houve um aumento de 1,3% durante os 6 primeiros dias, e se manteve estável até o 18º dia, tendo um novo aumento nos dias 21 e 28 de maturação, finalizando com uma perda total de 3,8%.

Figura 6. Distribuição das classes de maciez em função do tempo de maturação.

Fonte: própria autoria.

Figura 7. Médias de quadrados mínimos dos valores de perdas por cocção em função do tempo de maturação.

* Área sombreada em verde representa a variação entre valores máximos e mínimos.

Fonte: própria autoria.

Os valores de L^* apresentaram associação linear ($P < 0,0001$) e quadrática ($P < 0,0001$) com o tempo de maturação (Figura 8). De maneira geral, os valores de L^* aumentaram com o tempo de maturação

As carnes sem maturação iniciaram o teste com o valor de L^* médio de 43,9, tiveram um aumento até o 21º dia de maturação, representando neste período um crescimento 8,6% em comparação a carne sem maturação.

Com relação aos valores de a^* (grau de vermelho), uma relativa estabilidade desde o início (dia 0) até 15 dias de maturação, com um aumento nos dias 18 e 21, seguido de uma redução no dia 28 (Figura 9). Os valores de b^* apresentaram uma associação quadrática ($P < 0,0001$) com o tempo de maturação (Figura 10). Pode-se observar um aumento inicial entre os dias 0 e 6 ($P < 0,05$), seguido de uma estabilidade entre os dias 6 e 15, seguidos de um aumento nos dias 18 e 21.

Figura 8. Médias de quadrados mínimos dos valores de L^* em função do tempo de maturação

* Área sombreada em verde representa a variação entre valores máximos e mínimos.

Fonte: própria autoria.

Figura 9. Médias de quadrados mínimos dos valores de a^* em função do tempo de maturação

* Área sombreada em verde representa a variação entre valores máximos e mínimos.

Fonte: própria autoria.

Figura 10. Médias de quadrados mínimos dos valores de b* em função do tempo de maturação

* Área sombreada em verde representa a variação entre valores máximos e mínimos.

Fonte: própria autoria.

5.2. CORRELAÇÕES

De maneira geral, as correlações das características de desempenho e de carcaça com a qualidade da carne foram baixas (Tabela 2). Os valores de L* e b*

apresentaram correlações positivas de 0,28 ($P=0,030$) e 0,29 ($P=0,027$), respectivamente, com ganho de peso, enquanto as demais características de cor não foram associadas com nenhuma outra variável. Foram observadas correlações positivas entre o pH e a área de olho de lombo ($r=0,26$; $P=0,044$), e do peso de abate com a FC ($r=0,24$; $P=0,070$).

Tabela 2. Coeficientes de correlação de *Pearson* e probabilidades (entre parênteses) entre características avaliadas no animal vivo e após o abate com características de qualidade da carne.

Variáveis	Características de qualidade da carne					
	Cor			pH	WBSF	PPC
	L*	a*	b*			
Peso de abate	0,19 (0,148)	-0,10 (0,454)	0,19 (0,151)	-0,03 (0,811)	0,24 (0,070)	0,02 (0,086)
Consumo de alimento	0,09 (0,499)	-0,05 (0,687)	0,14 (0,273)	0,04 (0,742)	0,13 (0,335)	-0,09 (0,488)
Ganho de peso	0,28 (0,030)	0,09 (0,513)	0,29 (0,027)	0,01 (0,967)	0,01 (0,938)	-0,21 (0,112)
Peso de carcaça	0,11 (0,395)	-0,19 (0,159)	0,09 (0,484)	0,05 (0,706)	0,21 (0,107)	0,06 (0,665)
Área de olho de lombo	0,05 (0,718)	-0,19 (0,147)	-0,04 (0,747)	0,26 (0,044)	0,21 (0,110)	0,02 (0,900)
Espessura gordura	0,04 (0,757)	0,18 (0,167)	0,20 (0,124)	-0,01 (0,939)	-0,05 (0,687)	-0,04 (0,762)

Fonte: própria autoria.

As correlações entre as medidas de FC realizadas nos diferentes tempo de maturação foram mais altas quando comparadas com os tempos mais próximos, reduzindo à medida que o tempo entre as avaliações aumentou (Tabela 3). As correlações entre a FC avaliada no dia 0, com os demais tempos foram, em geral mais baixas (variando de 0,26 a 0,58), quando comparadas às correlações entre a FC avaliada no dia 3 com as demais. Da mesma forma, quando as medidas de FC avaliadas após algum tempo de maturação apresentaram maiores correlações em relação ao tempo 0.

Tabela 3. Coeficientes de correlação de *Pearson* probabilidades (entre parênteses), entre as medidas de força de cisalhamento, obtidas em diferentes tempos de maturação.

Dias de maturação	3	6	9	12	15	18	21	28
0	0,53 <0,001	0,58 <0,001	0,49 <0,001	0,43 <0,001	0,46 <0,001	0,45 <0,001	0,26 0,044	0,36 0,005
3		0,76	0,72	0,66	0,75	0,58	0,63	0,47

	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
6		0,74 <0,001	0,67 <0,001	0,63 <0,001	0,61 <0,001	0,48 <0,001	0,46 <0,001
9			0,62 <0,001	0,64 <0,001	0,60 <0,001	0,45 <0,001	0,40 <0,001
12				0,69 <0,001	0,64 <0,001	0,66 <0,001	0,60 <0,001
15					0,65 <0,001	0,65 <0,001	0,53 <0,001
18						0,62 <0,001	0,61 <0,001
21							0,65 <0,001

Fonte: própria autoria.

Quanto mais verde escuro maior a correlação entre as variáveis, quanto mais próximo ao vermelho, maior correlação negativa entre as variáveis.

6. DISCUSSÃO

Os efeitos de práticas de processamento da carne após o abate, particularmente da maturação, são bastante conhecidos por apresentarem um papel fundamental na palatabilidade da carne (Kim et al, 2018), especialmente em relação a maciez. Vários estudos indicam que os efeitos da maturação sobre a maciez se estendem por períodos de até 28 dias (Colle et al., 2016; Phelps et al., 2016), embora os efeitos mais pronunciados ocorram entre o 3º e 7º dia após o abate (Koohmaraie & Geesink, 2006). Neste estudo, a FC diminuiu cerca de 45% durante todo o período de maturação (28 dias), porém a queda foi mais acentuada até o 12º dia, quando a FC diminuiu cerca de 30%.

Quando as amostras foram agrupadas por classes, observa-se que tanto no dia 0 quanto no dia 3, nenhuma amostra foi classificada como macia, enquanto 88% foram classificadas como duras e 12% como intermediárias, indicando que esse período não foi suficiente para aumentar a maciez. Após 12 dias de maturação apenas 12% das amostras foram consideradas duras, enquanto 89% foram classificadas como macias (58%) ou intermediárias (31%). É interessante observar que apesar da percentagem de amostras macias aumentarem ao longo do tempo de maturação, algumas amostras continuaram duras mesmo após 28 dias. Wyrwisz et al. (2016) também utilizaram a classificação de Destefanis et al. (2008), e observaram que as carnes maturadas por 14 dias ainda eram classificadas como duras e somente após 21 dias de maturação se tornaram aceitavelmente macias. Essa discrepância pode ser explicada pela diferença no processo de proteólise que ocorre durante o processo de maturação, que por sua vez varia entre raça, idade e/ou dieta dos animais.

Segundo Koohmaraie & Geesink (2006) os três fatores que determinam a maciez da carne são a maciez de fundo, a fase de endurecimento e a fase de amaciamento. Enquanto as fases de endurecimento e amaciamento ocorrem depois do abate a dureza de fundo já existe no momento do abate e não muda durante o período de armazenamento pós-abate. Segundo Marsh & Lee (1966), a maciez de fundo é definida como “a resistência ao cisalhamento de músculos não contraídos” e essa variação deve-se ao tecido conjuntivo. Em particular a organização do perimísio parece afetar a maciez de fundo, uma vez que foi

observada uma correlação entre perimísio e a maciez dos músculos em aves e bovinos (Koohmaraie & Geesink, 2006). Esse fator pode estar relacionado com as amostras que não reduziram a FC ao longo do tempo de maturação (2-3%).

As amostras utilizadas nos estudos de Wyrwisz et al. (2016) eram provenientes de animais cruzados (Holstein-Friesian × Simental) que possuíam maior aptidão para leite, o que suporta a afirmação dos autores Monsón et al. (2005), que relataram que animais selecionados para carne precisam de menos tempo de maturação, enquanto que animais selecionados para outras aptidões, como leite e trabalho, necessitam de maior tempo (> 21 dias) para adquirirem a aceitabilidade ótima pelo consumidor. Lucero et al. (2014), relataram uma grande taxa no amaciamento de carnes de animais angus entre o 3º e 7º dia de maturação, os autores não encontraram diferença estatística nas carnes maturadas por 7 dias com as maturadas por 21 dias.

Segundo Kim et al. (2018), o aumento da perda de água ao longo do processo de conversão do musculo em carne e após o estabelecimento do *rigor mortis*, pode-se observar uma migração contínua da água na forma de purga do gotejamento durante a maturação. No entanto, uma melhora na capacidade de retenção de água tem sido relatada em carnes maturadas por longos períodos, o que pode estar associada à proteólise pós-morte das proteínas estruturais/citoesqueléticas, incluindo desmina, titina, nebulina e integrina.

Porém, Segundo Straadt et al. (2007), embora geralmente exista um aumento na capacidade de retenção de água das fibras do músculo durante o período de maturação, este fato não se transcreve à perda de água na hora da cocção. Straadt et al. (2007), notaram maior aumento na perda por cocção no 4º dia, porém sem diferenças do 6º ao 14º dia de maturação. Os mesmos autores ainda afirmaram que a maior perda de água durante os primeiros dias de maturação se deve à maior atividade proteolítica. Neste estudo, a PPC apresentou um pequeno aumento ao longo do tempo de maturação (3,8%), o que pode estar relacionado ao aumento da atividade proteolítica e desestabilização da estrutura muscular ocorrido ao longo do tempo.

A cor é um dos principais fatores de decisão de compra da carne, uma vez que os consumidores utilizam a descoloração como um indicador de frescor e salubridade (Mancini & Hunt, 2015). A cor também é importante para a aceitação e satisfação dos consumidores (Muchenie et al., 2009). Semelhante

ao observado neste estudo, Wyrwysz et al. (2016), também encontraram maiores valores de L^* e a^* após 14 dias de maturação e uma pequena redução aos 21 dias. A menor perda de água nos tempos iniciais de maturação, pode ter contribuído para a menor dispersão de luz, sendo o valor de L^* inferior ao valor encontrado em carnes com maior tempo de maturação.

Ao desconsiderar as amostras do 18º e 21º dia, é possível observar que o valor de a^* teve comportamento semelhante aos relatados por Mungure et al (2016), que observaram valor máximo de a^* entre o 3º e 7º dia de maturação, quando comparados ao 14º e 21º dia. Lee et al. (2008) também encontraram comportamento similar nas amostras do musculo *gluteus medius* maturados por 7 e 14 dias, as quais apresentaram-se mais avermelhadas (maior valor de a^*) e mais amareladas (maior valor de b^*) do que as amostras maturadas por 0, 21, 28 e 35 dias. Os autores sugeriram que carnes maturadas por 14 dias ou menos possuem maiores quantidades de oximioglobina e com cores mais vívidas, vermelhas e amarelas quando comparados a carnes maturadas por 28 ou 35 dias. Por outro lado, Mancini & Ramanathan (2014) relataram um aumento (35%) nos valores de a^* durante 45 dias de maturação, diferente do observado neste estudo.

O aumento nos valores de b^* observados ao longo do tempo pode estar associado à oxidação da mioglobina presente na superfície da carne (Luciano et al., 2009) e devido ao aumento dos compostos nitrogenados, tais como as aminas, resultantes da proteólise de enzimas endógenas e do metabolismo microbiano, as quais favorecem a formação da metamioglobina (Oliveira et al., 2012).

Os mecanismos exatos pelos quais a maturação influencia a cor e a estabilidade oxidativa dos músculos ainda não foram completamente esclarecidos. No entanto, de acordo com Kim et al. (2018) existem alguns fatores que podem influenciar a cor em períodos prolongados de maturação, como o acúmulo de pró-oxidantes (ferro heme e não-heme), redução ou depleção de compostos redutores endógenos ou antioxidantes.

7. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, é possível concluir que a maciez da carne aumenta progressivamente com o tempo de maturação até 28 dias, embora a maior queda ocorra até 12 dias. O período de maturação também afeta a perda por cocção e as características de cor, porém as características se mantiveram dentro da faixa considerada normal para a carne vermelha. A FC da carne avaliada 3 dias após o abate apresenta uma maior correlação com a FC avaliada em tempos subsequentes, enquanto a FC avaliada no dia 0 (24h após o abate) não é um bom preditor da maciez após a maturação.

8. REFERÊNCIAS

Aaslyng, M. D., Bejerholm, C., Ertbjerg, P., Bertram, H. C., & Andersen, H. J. (2003). Cooking loss and juiciness of pork in relation to raw meat quality and cooking procedure. **Food quality and preference**, 14(4), 277-288.

American Meat Science Association. (1995). Research guidelines for cookery, sensory evaluation and instrumental tenderness measurements of fresh meat. **National Live Stock and Meat Board**, Chicago.

Bhat, Z. F., Morton, J. D., Mason, S. L., & Bekhit, A. E. D. A. (2018). Role of calpain system in meat tenderness: A review. **Food Science and Human Wellness**, 7(3), 196-204.

Brasil. MAPA. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Circular no 53 de 19 de maio de 1988** - Critérios adotados para obtenção do produto “Carne Resfriada” (ou congelada) de Bovinos sem osso (corte maturado).

Boakye, K., & Mittal, G. S. (1993). Changes in pH and water holding properties of Longissimus dorsi muscle during beef ageing. **Meat Science**, 34(3), 335-349.

Boleman, S. J., Boleman, S. L., Miller, R. K., Taylor, J. F., Cross, H. R., Wheeler, T. L., ... & Johnson, D. D. (1997). Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. **Journal of animal science**, 75(6), 1521-1524.

Busch, W. A., Stromer, M. H., Goll, D. E., & Suzuki, A. (1972). Ca²⁺-specific removal of Z lines from rabbit skeletal muscle. **The Journal of cell biology**, 52(2), 367-381.

Colle, M. J., Richard, R. P., Killinger, K. M., Bohlscheid, J. C., Gray, A. R., Loucks, W. I., ... & Doumit, M. E. (2016). Influence of extended aging on beef quality characteristics and sensory perception of steaks from the gluteus medius and longissimus lumborum. **Meat Science**, 110, 32-39.

Creed, P. G. (1995). The sensory and nutritional quality of ‘sous vide’ foods. **Food Control**, 6(1), 45-52.)

Destefanis, G., Brugiapaglia, A., Barge, M. T., & Dal Molin, E. (2008). Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner–Bratzler shear force. **Meat science**, 78(3), 153-156.

Ertbjerg, P., & Puolanne, E. (2017). Muscle structure, sarcomere length and influences on meat quality: A review. **Meat science**, 132, 139-152.

Ferguson, D. M., & Gerrard, D. E. (2014). Regulation of post-mortem glycolysis in ruminant muscle. **Animal Production Science**, 54(4), 464-481.

Florek, M., Litwinczuk, A., Skalecki, P., & Ryszkowska-Siwko, M. (2007). Changes of physicochemical properties of bullocks and heifers meat during 14 days of ageing under vacuum. **Polish journal of food and nutrition sciences**, 57(3), 281-287.

Gagaoua, M., Monteils, V., & Picard, B. (2018). Decision tree, a learning tool for the prediction of beef tenderness using rearing factors and carcass characteristics. **Journal of the science of food and agriculture**, 99(3), 1275-1283.

Gagaoua, M., Picard, B., & Monteils, V. (2019). Assessment of cattle inter-individual cluster variability: the potential of continuum data from the farm-to-fork for ultimate beef tenderness management. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 99(8), 4129-4141.

Geesink, G. H. et al. μ -Calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins¹². **Journal of animal science**, v. 84, n. 10, p. 2834-2840, 2006.

Goll, D. E., Thompson, V. F., Taylor, R. G., & Christiansen, J. A. (1992). Role of the calpain system in muscle growth. **Biochimie**, 74(3), 225-237.

Goll, D. E., Thompson, V. F., Li, H., Wei, W. E. I., & Cong, J. (2003). The calpain system. **Physiological reviews**.

Gotti, C., Sensini, A., Zucchelli, A., Carloni, R., & Focarete, M. L. (2020). Hierarchical fibrous structures for muscle-inspired soft-actuators: A review. **Applied Materials Today**, 20, 100772.

Greaser, M. L. (1986). Conversion of muscle to meat. **Muscle as food**, 37-102.

Ha, M., McGilchrist, P., Polkinghorne, R., Huynh, L., Galletly, J., Kobayashi, K., Nishimura, T., Bonney, S., Kelman, K.R. and Warner, R.D., (2019) Effects of different ageing methods on colour, yield, oxidation and sensory qualities of Australian beef loins consumed in Australia and Japan. **Food Research International**, 125, p.108528.

Higgs, J. D. (2000). The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. **Trends in Food Science & Technology**, 11(3), 85-95.

Hocquette, J. F., Botreau, R., Picard, B., Jacquet, A., Pethick, D. W., & Scollan, N. D. (2012). Opportunities for predicting and manipulating beef quality. **Meat science**, 92(3), 197-209.

Honikel, K. O. (2014). Conversion of muscle to meat| Glycolysis.

Hopkins, D. L., & Geesink, G. H. (2009). Protein degradation post mortem and tenderisation. **Applied muscle biology and meat science**, 149-173.

Huffman, K. L., Miller, M. F., Hoover, L. C., Wu, C. K., Brittin, H. C., & Ramsey, C. B. (1996). Effect of beef tenderness on consumer satisfaction with steaks consumed in the home and restaurant. **Journal of animal science**, 74(1), 91-97.

Hwang, I. H., Devine, C. E., & Hopkins, D. L. (2003). The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. **Meat science**, 65(2), 677-691.

Ismail, I., Hwang, Y. H., & Joo, S. T. (2019). Interventions of two-stage thermal sous-vide cooking on the toughness of beef semitendinosus. **Meat science**, 157, 107882.

Jacob, R. (2019). Implications of the variation in bloom properties of red meat: A review. **Meat Science**, 108040.

Jaeger, S. R. (2006). Non-sensory factors in sensory science research. **Food Quality and Preference**, 17(1-2), 132-144.

Jiang, T., J. R. Busboom, M. L. Nelson, J. O'Fallon, T. P. Ringkob, K. R. Rogers-Klette, D. Joos, and K. Piper. "The influence of forage diets and aging on beef palatability." **Meat Science** 86, no. 3 (2010): 642-650.

Johnson, D. D., Huffman, R. D., Williams, S. E., & Hargrove, D. D. (1990). Effects of percentage Brahman and Angus breeding, age-season of feeding and slaughter end point on meat palatability and muscle characteristics. **Journal of Animal Science**, 68(7), 1980-1986.

Joo, S. T., Kim, G. D., Hwang, Y. H., & Ryu, Y. C. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. **Meat science**, 95(4), 828-836.

Jorquera-Chavez, M., Fuentes, S., Dunshea, F. R., Jongman, E. C., & Warner, R. D. (2019). Computer vision and remote sensing to assess physiological responses of cattle to pre-slaughter stress, and its impact on beef quality: A review. **Meat science**.

Kapprell, H. P., & Goll, D. E. (1989). Effect of Ca^{2+} on binding of the calpains to calpastatin. **Journal of Biological Chemistry**, 264(30), 17888-17896.

Kim, I. A., den-Hollander, E., & Lee, H. S. (2018). Two-step rating-based 'double-faced applicability' test for sensory analysis of spread products as an alternative to descriptive analysis with trained panel. **Food Research International**, 105, 250-260.

Kim, Y. H. B., Frandsen, M., & Rosenvold, K. (2011). Effect of ageing prior to freezing on colour stability of ovine longissimus muscle. **Meat Science**, 88(3), 332-337.

Kim, Y. H. B., Warner, R. D., & Rosenvold, K. (2014). Influence of high pre-rigor temperature and fast pH fall on muscle proteins and meat quality: a review. **Animal Production Science**, 54(4), 375-395.

Koohmaraie, M. (1992). Effect of pH, temperature, and inhibitors on autolysis and catalytic activity of bovine skeletal muscle mu-calpain. **Journal of Animal Science**, 70(10), 3071-3080.

Koohmaraie, M., & Geesink, G. H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. **Meat science**, 74(1), 34-43.

Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). Sensory evaluation of food: principles and practices. **Springer Science & Business Media**.

Lee, M. S., Apple, J. K., Yancey, J. W. S., Sawyer, J. T., & Johnson, Z. B. (2008). Influence of vacuum-aging period on bloom development of the beef gluteus medius from top sirloin butts. **Meat Science**, 80(3), 592-598.

Lindahl, G., Karlsson, A. H., Lundström, K., & Andersen, H. J. (2006). Significance of storage time on degree of blooming and colour stability of pork loin from different crossbreeds. **Meat Science**, 72(4), 603-612.

Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Picard, B. & Bugeon, J. (2016). How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. **The Scientific World Journal**, v.2016.

Liu, J., Puolanne, E., & Ertbjerg, P. (2015, August). A new hypothesis explaining the influence of sarcoplasmic proteins on the water-holding of myofibrils. **In Proceedings of the 61st International Congress of Meat Sci and Technology**.

Luciano, G., Monahan, F. J., Vasta, V., Pennisi, P., Bella, M., & Priolo, A. (2009). Lipid and colour stability of meat from lambs fed fresh herbage or concentrate. **Meat Science**, 82(2), 193-199.

Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. **Meat science**, 71(1), 194-204.

Huff-Lonergan, E., Zhang, W., & Lonergan, S. M. (2010). Biochemistry of postmortem muscle—Lessons on mechanisms of meat tenderization. **Meat science**, 86(1), 184-195.

Lucero-Borja, J., Pouzo, L. B., De La Torre, M. S., Langman, L., Carduza, F., Corva, P. M., ... & Pavan, E. (2014). Slaughter weight, sex and age effects on beef shear force and tenderness. **Livestock Science**, 163, 140-149.

Maher, S. C., Mullen, A. M., Keane, M. G., Buckley, D. J., Kerry, J. P., & Moloney, A. P. (2004). Decreasing variation in the eating quality of beef through homogenous pre-and post-slaughter management. **Meat Science**, 67(1), 33-43.

Mancini, R. A., & Hunt, M. (2005). Current research in meat color. **Meat science**, 71(1), 100-121.

Mancini, R. A., & Ramanathan, R. (2014). Effects of postmortem storage time on color and mitochondria in beef. **Meat Science**, 98(1), 65-70.

McCormick, R. J. (1994). The flexibility of the collagen compartment of muscle. **Meat Science**, 36(1-2), 79-91.

Monsón, F., Sañudo, C., Sierra, I. (2005). Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. **Meat science**, 71(3), 471-479.

Moskowitz, H. R. (1996). Experts versus consumers: A comparison. **Journal of Sensory Studies**, 11(1), 19-37.

Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P. E., Hugo, A., & Raats, J. G. (2009). Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. **Food chemistry**, 112(2), 279-289.

Mungure, T. E., Bekhit, A. E. D. A., Birch, E. J., & Stewart, I. (2016). Effect of rigor temperature, ageing and display time on the meat quality and lipid oxidative stability of hot boned beef Semimembranosus muscle. **Meat science**, 114, 146-153.

Newman, J., Harbourne, N., O'Riordan, D., Jacquier, J. C., & O'Sullivan,

M. (2014). Comparison of a trained sensory panel and an electronic tongue in the assessment of bitter dairy protein hydrolysates. **Journal of Food Engineering**, 128, 127-131.

Nishimura, T. (2010). The role of intramuscular connective tissue in meat texture. **Animal science journal**, 81(1), 21-27.

O'Connor, S. F., Tatum, J. D., Wulf, D. M., Green, R. D., & Smith, G. C. (1997). Genetic effects on beef tenderness in Bos indicus composite and Bos taurus cattle. **Journal of Animal Science**, 75(7), 1822-1830.

Offer, G., & Cousins, T. (1992). The mechanism of drip production: formation of two compartments of extracellular space in muscle post mortem. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 58(1), 107-116.

Offer, G., Knight, P., Jeacocke, R., Almond, R., Cousins, T., Elsey, J., ... & Purslow, P. (1989). The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. **Food structure**, 8(1), 17.

Oliveira, E. A., Sampaio, A. A. M., Henrique, W., Pivaro, T. M., Rosa, B. L., Fernandes, A. R. M., & Andrade, A. T. (2012). Quality traits and lipid composition of meat from Nellore young bulls fed with different oils either protected or unprotected from rumen degradation. **Meat Science**, 90(1), 28-35.

Olson, J. C. (1977). Price as an Informational Cue: Effects on Product Evaluations. **Consumer and Industrial Buying Behavior**, Arch G. Woodside, Jagdish N. Sheth, and Peter D. Bennett, eds.

Ordóñez Pereda, J. A., Cambero Rodríguez, M. I., Fernández Álvarez, L., García Sanz, M., García de Fernando Minguillón, G. D., De la Hoz Perales, L., & Selgas Cortecero, M. D. (1998). Tecnología de los alimentos. **Ciencias químicas (España)**.

Otsuka, Y., & Goll, D. E. (1987). Purification of the Ca²⁺-dependent proteinase inhibitor from bovine cardiac muscle and its interaction with the millimolar Ca²⁺-dependent proteinase. **Journal of Biological Chemistry**, 262(12), 5839-5851.

Phelps, K., Drouillard, J. S., Silva, M., Miranda, L., Ebarb, S., Van Bibber-Krueger, C., & Gonzalez, J. M. (2016). Effect of extended postmortem aging and steak location on myofibrillar protein degradation and Warner-Bratzler shear force of beef M. semitendinosus steaks. **Journal of Animal Science**, 94, 412–423.

Purslow, P. P. (2005). Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. **Meat science**, 70(3), 435-447.

Purslow, P. P., Oiseth, S., Hughes, J., & Warner, R. D. (2016). The structural basis of cooking loss in beef: Variations with temperature and ageing. **Food Research International**, 89, 739-748.

Quali, A. (1992). Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. **Biochimie**, 74(3), 251-265.

Ramalingam, V., Zhen, S., & Hwang, I. (2019). The potential role of secondary metabolites in modulating the flavor and taste of the meat. **Food research international**.

Venkata Reddy, B., Sivakumar, A. S., Jeong, D. W., Woo, Y. B., Park, S. J., Lee, S. Y., ... & Hwang, I. (2015). Beef quality traits of heifer in comparison with steer, bull and cow at various feeding environments. **Animal Science Journal**, 86(1), 1-16.

Reville, W. J., Goll, D. E., Stromer, M. H., Robson, R. M., & Dayton, W. R. (1976). A Ca^{2+} -activated protease possibly involved in myofibrillar protein turnover. Subcellular localization of the protease in porcine skeletal muscle. **The Journal of cell biology**, 70(1), 1-8.

Robergs, R. A., Ghiasvand, F., & Parker, D. (2004). Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 287(3), R502-R516.

Rodas-González, A., Huerta-Leidenz, N., Jerez-Timaure, N., & Miller, M. F. (2009). Establishing tenderness thresholds of Venezuelan beef steaks using consumer and trained sensory panels. **Meat Science**, 83(2), 218-223.

Ryu, Y. C., Choi, Y. M., Lee, S. H., Shin, H. G., Choe, J. H., Kim, J. M., ... & Kim, B. C. (2008). Comparing the histochemical characteristics and meat quality traits of different pig breeds. **Meat Science**, 80(2), 363-369.

Sakowska, A., Guzek, D., Głabska, D., & Wierzbicka, A. (2016). Carbon monoxide concentration and exposure time effects on the depth of CO penetration and surface color of raw and cooked beef longissimus lumborum steaks. **Meat science**, 121, 182-188.

Sañudo, C., Macie, E. S., Olleta, J. L., Villarroel, M., Panea, B., & Alberti, P. (2004). The effects of slaughter weight, breed type and ageing time on beef meat quality using two different texture devices. **Meat Science**, 66(4), 925-932.

Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., & Koohmaraie, M. (1997). Tenderness classification of beef: I. Evaluation of beef longissimus shear force at 1 or 2 days postmortem as a predictor of aged beef tenderness. **Journal of animal science**, 75(9), 2417-2422.

Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., Meade, M. K., Reagan, J. O., Byrnes, B. L., & Koohmaraie, M. (2001). Consumer impressions of Tender Select beef. **Journal of animal science**, 79(10), 2605-2614.

Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., & Koohmaraie, M. (1995). Relationship between shear force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscles from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. **Journal of animal science**, 73(11), 3333-3340.

Spanier, A. M., Flores, M., McMillin, K. W., & Bidner, T. D. (1997). The effect of post-mortem aging on meat flavor quality in Brangus beef. Correlation of treatments, sensory, instrumental and chemical descriptors. **Food Chemistry**, 59(4), 531-538.

Stone, H., & Sidel, J. L. (2004). Introduction to sensory evaluation. **Sensory Evaluation Practices** (Third Edition). *Academic Press, SanDiego*, 1-19.

Straadt, I. K., Rasmussen, M., Andersen, H. J., & Bertram, H. C. (2007). Aging-induced changes in microstructure and water distribution in fresh and cooked pork in relation to water-holding capacity and cooking loss—A combined confocal laser scanning microscopy (CLSM) and low-field nuclear magnetic resonance relaxation study. **Meat Science**, 75(4), 687-695.

Suman, S. P., & Joseph, P. (2013). Myoglobin chemistry and meat color. **Annual review of food science and technology**, 4, 79-99.

Suman, S. P., Hunt, M. C., Nair, M. N., & Rentfrow, G. (2014). Improving beef color stability: Practical strategies and underlying mechanisms. **Meat science**, 98(3), 490-504.

Tarrant, P. V. (1989). Animal behaviour and environment in the dark-cutting condition in beef—a review. **Irish Journal of Food Science and Technology**, 1-21.

Teixeira, L. V. (2009). Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, 64(366), 12-21.

Troy, D. J., & Kerry, J. P. (2010). Consumer perception and the role of science in the meat industry. **Meat science**, 86(1), 214-226.

Wallace, W. J., Houtchens, R. A., Maxwell, J. C., & Caughey, W. S. (1982). Mechanism of autooxidation for hemoglobins and myoglobins. Promotion of superoxide production by protons and anions. **Journal of Biological Chemistry**, 257(9), 4966-4977.

Wang, Q., Zhao, X., Ren, Y., Fan, E., Chang, H., & Wu, H. (2013). Effects of high pressure treatment and temperature on lipid oxidation and fatty acid composition of yak (*Poephagus grunniens*) body fat. **Meat science**, 94(4), 489-494.

Warner, R. (2016). Encyclopedia of Food and Health. Victoria: **Meat: Conversion of muscle into meat.**

Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Johnson, L. P., Miller, M. F., Miller, R. K., & Koohmaraie, M. (1997). A comparison of Warner-Bratzler shear force assessment within and among institutions. **Journal of animal science**, 75(9), 2423-2432.

Westerblad, H., Allen, D. G., & Lannergren, J. (2002). Muscle fatigue: lactic acid or inorganic phosphate the major cause?. **Physiology**, 17(1), 17-21.

Whipple, G., Koohmaraie, M., Dikeman, M. E., Crouse, J. D., Hunt, M. C., & Klemm, R. D. (1990). Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, 68(9), 2716-2728.

Wyrwisz, J., Moczowska, M., Kurek, M., Stelmasiak, A., Półtorak, A., & Wierzbicka, A. (2016). Influence of 21 days of vacuum-aging on color, bloom development, and WBSF of beef semimembranosus. **Meat science**, 122, 48-54.