UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ELIANE BONIFÁCIO SILVA

Proteólise miofibrilar e maciez da carne de bovinos (*Bos indicus*) submetidos a diferentes técnicas pós-morte de suspensão das carcaças.

ELIANE BONIFÁCIO SILVA

Proteólise miofibrilar e maciez da carne de bovinos (*Bos indicus*) submetidos a diferentes técnicas pós-morte de suspensão das carcaças.

Dissertação apresentada 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 Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Albino Luchiari
Filho

FICHA CATALOGRÁFICA

preparada pela

Biblioteca da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo

S586p

Silva, Eliane Bonifácio

Proteólise miofibrilar e maciez da carne de bovinos (*Bos indicus*) submetidos a diferentes técnicas pós-morte de resfriamento das carcaças / Eliane Bonifácio Silva – Pirassununga, 2005.

50 f.

Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo.

Departamento de Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Albino Luchiari Filho.

Unitermos: 1. Cisalhamento - força 2. Carcaça - suspensão
3. Fragmentação miofibrilar 4. *Longissimus dorsi* I. Título.

AGRADECIMENTOS

Ao professor e orientador Dr. Albino Luchiari Filho pela orientação, ensinamentos, incentivos e paciência.

Ao professor Dr. Luís Artur Loyola Chardulo pela colaboração no trabalho.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP), pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À Universidade Estadual de São Paulo (Unesp) – Julio de Mesquita Filho, Campus de Botucatu - SP pela disposição do Laboratório de Bioquímica de Proteínas do Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências.

À Janaína Conte Hadlich e ao Andrei pelo auxílio na execução desse trabalho.

Ao Saulo da Luz e Silva pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao professor Dr. Paulo Roberto Leme pela atenção e sugestões.

Aos funcionários da Biblioteca da FZEA, Bernadete Mehler, Maria Teixeira, Patrícia Vick, Iara Rodrigues de Amorim e Marcelo Roberto Dozena por toda a atenção e competência durante todos esses anos de graduação e pós - graduação que convivi com vocês.

Aos Funcionários do Matadouro – Escola pela colaboração no êxito desse trabalho.

Aos responsáveis pelo frigorífico Marfrig, por cooperarem com a realização desse trabalho nas dependências da indústria.

Em especial ao Felipe, pelo amor, amizade, compreensão, incentivo e paciência.

As minhas amigas, Ana Carolina, Sandra Ribeiro, Mariana Baccaglini e Patrícia Bernardes pelo companheirismo, amizade e incentivo.

E a todos que mesmo sem saber contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho.

"Uma universidade, antes de tudo, é um centro de contestação do mundo à sua volta. Um refúgio onde se cultiva a dúvida. Um oásis onde teorias costumam ser erodidas e mitos, contestados".

(Carlos Chagas - Jornalista)

RESUMO

SILVA, E. B. **Proteólise miofibrilar e maciez da carne de bovinos (*Bos indicus*) submetidos a diferentes técnicas pós-morte de suspensão das carcaças**. 2005. 50f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga. 2005.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a posição da suspensão de carcaças durante o período de resfriamento, no primeiro experimento lados alternados de dez animais Nelores machos castrados, foram suspensos pelo método tradicional (Tendão de Aquiles) ou dispostos horizontalmente em pallets, no segundo experimento lados alternados de 16 animais machos castrados e 16 fêmeas foram suspensos pelo método tradicional (Tendão de Aquiles) ou pelo músculo Carpo Radial. Amostras do músculo *Longissimus dorsi* na 12ª costela foram coletadas de todos os lados (42 lados esquerdos e 42 lados direitos) após o período de 24 horas de resfriamento, estas amostras foram embaladas a vácuo e maturadas por sete dias antes de serem congeladas e armazenadas até a realização das análises de força de cisalhamento, perdas de água por cocção e índice de fragmentação miofibrilar (MFI). Para a primeira experiência nenhuma diferença foi observada para espessura de gordura subcutânea, perdas de água por cocção, força de cisalhamento e MFI. Na segunda experiência não houve diferença para espessura de gordura entre os tratamentos, mas as fêmeas apresentavam maior espessura que os machos. Para perdas de água por cocção e força de cisalhamento não houve diferença, mas observando o MFI existe diferença entre os machos e fêmeas e também entre os métodos de pendura. A média de MFI para o tratamento de suspensão pelo Carpo Radial foi maior do que a suspensão pelo tendão de Aquiles.

Palavras - chave: Cisalhamento - força; Carcaça – suspensão; Fragmentação miofibrilar; “*Longissimus dorsi*”.

ABSTRACT

SILVA, E. B. **Myofibril fragmentation index and shear force of *Bos indicus* steers and heifers submitted to different hanging positions during chilling.** 2005. 50f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga. 2005.

The objective of this work was to evaluate the carcass hanging position during the chilling period in which 1st experiment: alternate sides of ten Nellore steers were hang either by the traditional way (Achilles tendon) or placed horizontally over pallets or 2nd experiment: alternate sides of 16 Nellore steers and 16 Nellore heifers were hang either by the Achilles tendon or by the Carpus radial muscle of the forequarter. Longissimus dorsi muscle samples at the 12th rib level were removed from all sides (42 left and 42 right sides) after a 24 hr chilling period, vacuum packaged and aged for 7 days before being frozen and kept for future analysis of shear force, cooking losses and Myofibril fragmentation index (MFI). For the first experiment no differences were observed for fat thickness, cooking losses, shear force and MFI. In the second experiment there was not differences for fat thickness between treatments but heifers showed a thicker fat layer than steers. For cooking losses and shear force there was not differences although for the MFI and hanging position between heifers and steers were observed. The MFI average of the treatment hang by the Carpus radial muscle were higher than the treatment hang by the Achilles tendon.

KEY WORDS: Shear force; Myofibril fragmentation index; "Longissimus dorsi"; Carcass hanging

LISTA DE FOTOS

Foto 1 -	Pendura tradicional.....	27
Foto 2 -	Carcaça disposta horizontalmente em pallets.....	27
Foto 3 -	Ultra - Turrax, usado na homogeneização das amostras.....	29
Foto 4 -	Vazador Mecânico para a retirada dos cilindros de 12,7 mm.....	31
Foto 5 -	Warner – Braztler Shear Force para análise de maciez.....	31
Foto 6 -	Carcaças suspensas através da pendura tradicional pelo tendão de Aquiles (TA) ou suspensão pelo Carpo Radial (CR).....	37
Figura 7 -	Primeira centrifugação das amostras após a homogeneização.....	39
Figura 8 -	Segunda centrifugação das amostras.....	39
Figura 9 -	Retirada dos Cilindros de 1,27 mm para análise de maciez.....	41
Figura 10 -	Warner – Braztler Shear Force.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios e erro padrão de espessura de gordura subcutânea (EGS), perdas totais (PT), perdas por evaporação (PE), perdas por gotejamento (PG), força de cisalhamento (FC) e índice de fragmentação miofibrilar (MFI) dos músculos submetidos a dois tipos de suspensão.....	32
Tabela 2 - Valores médios de peso de carcaça (PMC) e espessura de gordura subcutânea (EGS) para os dois dias de abate.....	37
Tabela 3 - Valores médios e erro padrão de espessura de gordura subcutânea (EGS), perdas totais (PT), perdas por evaporação (PE), Perdas por gotejamento (PG), força de cisalhamento (FC) e índice de fragmentação miofibrilar (MFI) para o “Longissimus dorsi” diferenciados por sexo e método de suspensão.....	42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Freqüência cruzada entre Força de Cisalhamento (FC) e MFI das análises realizadas com a suspensão pelo Tendão de Aquiles e carcaças dispostas horizontalmente.....	33
Gráfico 2 - Freqüência cruzada entre Força de Cisalhamento (FC) e MFI das análises realizadas com as suspensões pelo Tendão de Aquiles e Carpo radial.....	44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1	TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE.....	16
2.2	MACIEZ.....	17
2.3	ÍNDICE DE FRAGMENTAÇÃO MIOFIBRILAR (MFI).....	21
2.4	MÉTODOS DE SUSPENSÃO.....	23
3	MFI E MACIEZ DA CARNE DE BOVINOS SUBMETIDOS A SUSPENSÃO TRADICIONAL OU PELA TÉCNICA HORIZONTAL DE RESFRIAMENTO DAS CARCAÇAS.....	26
3.1	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1.1	LOCAL DE EXECUÇÃO.....	26
3.1.2	ANIMAIS.....	26
3.1.3	ÍNDICE DE FRAGMENTAÇÃO MIOFIBRILAR (MFI).....	28
3.1.4	PERDA DE ÁGUA NO COZIMENTO.....	29
3.1.5	FORÇA DE CISALHAMENTO.....	30
3.1.6	ANÁLISES ESTATÍSTICA.....	31
3.2	RESULTADOS.....	32
3.3	CONCLUSÕES.....	35
4	MFI E MACIEZ DA CARNE DE BOVINOS SUBMETIDOS A SUSPENSÃO PELO TENDÃO DE AQUILES OU PELO CARPO RADIAL.....	36
4.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1.1	LOCAL DE EXECUÇÃO.....	36
4.1.2	ANIMAIS.....	36
4.1.3	ÍNDICE DE FRAGMENTAÇÃO MIOFIBRILAR (MFI).....	38
4.1.4	PERDA DE ÁGUA NO COZIMENTO.....	39
4.1.5	FORÇA DE CISALHAMENTO.....	40
4.1.6	ANÁLISES ESTATÍSTICA.....	41
4.2	RESULTADOS.....	42

4.3	CONCLUSÕES.....	45
	REFERÊNCIAS.....	46

PROTEÓLISE MIOFIBRILAR E MACIEZ DA CARNE DE BOVINOS (*BOS INDICUS*) SUBMETIDOS A DIFERENTES TÉCNICAS PÓS-MORTE DE SUSPENSÃO DAS CARÇAÇAS.

1 INTRODUÇÃO

Segundo a FAO o rebanho de bovinos no Brasil é de cerca de 192 milhões de animais, sendo o segundo maior rebanho mundial ficando atrás somente da Índia. E o principal produto da bovinocultura brasileira é a carne, atingindo em 2005 uma produção em equivalente-carcaça de 8.250 mil toneladas ficando atrás somente dos EUA e atualmente é o maior exportador de carnes bovinas tendo exportado 1.750 mil toneladas, ocupando lugar de destaque com um dos maiores faturamentos em exportações no agronegócio brasileiro.

Dentre as raças bovinas criadas no Brasil, as zebuínas são de maior representatividade, sendo que a predominante é a raça Nelore ou os animais anelorados. Por suas características genéticas, são raças que apresentam menor maciez e menor precocidade sexual que as raças taurinas, mas também apresentam vantagens interessantes como, por exemplo, produzem uma carne mais magra e são mais resistentes.

O mercado consumidor vem se tornando cada vez mais exigente, os consumidores procuram por segurança e qualidades como cor, maciez, suculência e sabor na hora da compra.

Desta forma a qualidade da carne, que não é uma função simplesmente da genética ou da produção animal, tornou-se de fundamental importância na competitividade da cadeia produtiva. Este atributo pode ser alterado por fatores que vão desde o genótipo do animal até o processo final de cocção.

Os produtores têm se preocupado cada vez mais com a qualidade da carne nos últimos anos, mas em outros países há muito tempo se buscam técnicas que possam prever a qualidade da carne. Esta preocupação passou a fazer parte da rotina dos produtores brasileiros a partir do ano de 1994, quando a queda da

inflação, a abertura do mercado e o conseqüente aumento da concorrência aumentaram a procura por métodos que melhorassem a qualidade da carne.

Dentre as inúmeras formas de melhorar os atributos que compõem a qualidade da carne, estão os métodos de suspensão da carcaça. Desenvolvidos há trinta anos melhoram a maciez da carne através do estiramento muscular, mas essas novas metodologias não foram muito difundidas, porque exigem adaptações e conseqüente aumento no custo.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do método de suspensão, onde as carcaças foram mantidas em posição horizontal, para permitir o resfriamento dos músculos sem haver nenhuma força tracionando ou comprimindo os mesmos. Propor um novo método de suspensão da carcaça pelo músculo Carpo radial, comparando com a suspensão tradicional pelo Tendão de Aquiles, além de testar as técnicas de avaliação da maciez pelos métodos de força de cisalhamento e MFI do músculo *Longissimus dorsi*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

De todas as características organolépticas que contribuem para a qualidade da carne, a maciez é provavelmente a mais importante. Uma larga variabilidade na maciez da carne é observada mesmo em músculos de grupos homogêneos. Essa variabilidade é originária de vários fatores como raça, idade, sexo, meio ambiente, estresse pré abate, abate, e período *post mortem* (STEEN et al. 1997).

Segundo Thompson (2002), a maciez da carne é influenciada pela produção, processamento e método de cozimento usado para preparar a carne para o consumo. Uma falha em um ou mais desses fatores pode resultar em falta de maciez na carne e uma experiência desagradável para o consumidor. A maioria das diferenças relatadas quanto a palatabilidade da carne concentram-se na raça do animal em especial os animais que possuem genótipo *Bos indicus*. Esses animais apresentam menor índice de marmorização e produzem músculos menos macios que animais com genótipo *Bos taurus*. A magnitude do efeito *Bos indicus* tende a variar entre estudos, alguns experimentos mostram que 25% podem causar um impacto na palatabilidade, outros consideram 50% ou até 75% de genótipo *Bos indicus* para que consumidores sejam capazes de detectar um declínio na palatabilidade.

As características da carne são influenciadas por uma variedade de fatores, por exemplo, o animal quanto à raça, sexo, idade, alimentação, transporte e forma em que é abatido e ainda o processo de armazenamento da carne, durante a maturação os músculos irão passar por diversas mudanças que podem afetar a qualidade da carne. Essas mudanças são refletidas em muitas características tais como a cor, a maciez, o sabor, aroma e suculência. Um dos maiores desafios da indústria de carnes é obter qualidade da carne durante o processo de produção e garantir que os produtos que chegam aos consumidores mantenham essa qualidade (LIU et al. 2003).

2.1 TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE

Fatores críticos, como o manejo do animal anterior ao momento de abate e as condições do processo que serão aplicados durante as primeiras 24 horas após o abate influenciam na qualidade da carne (LUCHIARI FILHO, 2000).

No momento do abate do animal, o metabolismo continua a ocorrer sob controle local, a parada da circulação sanguínea no momento da morte inicia uma complexa série de mudanças no tecido muscular. A mudança imediata é a interrupção do fornecimento de oxigênio aos músculos pelo sangue e a conseqüente diminuição do potencial de oxirredução. Com a morte e, por conseqüência, com a falência sanguínea, o aporte de oxigênio e o controle nervoso deixam de chegar à musculatura. Na ausência de ATP a actina e a miosina se combinam para formar cadeias rígidas de actomiosina. Essa formação ocorre lentamente no início (fase retardada), onde os níveis de ATP são constantes, e a creatina fosfato cai rapidamente, enquanto há uma lenta produção de lactato e o início do desenvolvimento do rigor mortis. Quando a creatina fosfato cai o suficiente, um rápido declínio de ATP (fase rápida) é iniciado, acompanhado pelo encurtamento do músculo. Com a ausência de ATP também aumenta a dificuldade de manutenção da integridade estrutural das proteínas (LAWRIE, 2005).

As proteínas sarcoplasmáticas que são responsáveis por parte da capacidade de retenção de água são afetadas pela queda *post mortem* do pH. A perda de ATP e a conseqüente formação de actomiosina à medida que os músculos entram em *rigor mortis* causam a perda da capacidade de retenção de água, isso acontece porque a capacidade de retenção de água da actomiosina é menor do que as da miosina e da actina, e ainda porque o nível mais baixo de ATP inicia a desnaturação das proteínas. A velocidade da queda do pH *post mortem* também é um importante determinante da capacidade de retenção de água, a desnaturação das proteínas sarcoplasmáticas é mais agravada quanto mais rápida for a queda do pH. Muitas mudanças na qualidade da carne são decorrentes das alterações do pH. O pH do músculo vivo situa-se ao redor de sete, o desejável para a carne fresca situa-se entre 5,6 e 5,8. Espera-se que valores logo acima do ponto isoelétrico das proteínas

musculares que se situa em torno de 5,5 aumentem a capacidade de retenção de água (JUDGE et al 1989 e LAWRIE, 2005).

Segundo Lawrie (2005), algum encurtamento ocorre em todos os músculos durante a glicólise *post mortem* a temperaturas entre 1°C e 38°C. À medida que o ATP é requerido para habilitar o retículo sarcoplasmático a bombear íons Ca^{++} para fora do sarcoplasma, espera-se que a redução do ATP durante o acontecimento do *rigor mortis* estimule a saída de íons Ca^{++} de volta para o sarcoplasma por meio do qual o sistema contrátil é estimulado. A temperatura de *rigor mortis*, abaixo de 10°C e acima de 20°C, resulta em aumento substancial no encurtamento dos músculos e conseqüente dureza. O aumento da dureza da carne sob temperaturas acima de 20°C ocorre antes da perda da extensibilidade *no rigor mortis* e é conhecido como encurtamento pelo calor, já em temperaturas abaixo de 10°C o encurtamento pelo frio ocorre principalmente se o pH estiver, ainda, acima de 6,2. Com a queda da temperatura diminui também a habilidade da bomba do retículo sarcoplasmático para recapturar Ca^{++} . Essas condições são claramente dependentes das taxas de glicólise e da taxa em que os músculos são resfriados.

2.2 MACIEZ

A maciez da carne é uma característica complexa que é determinada por uma série de fatores intrínsecos ao músculo, muitos dos quais podem ser influenciados não somente pela genética ou idade do animal, mas também por fatores externos. Estes podem agir durante o crescimento do animal, período pré abate, *post mortem*, após o *rigor mortis* e durante o cozimento da carne (PURCHAS; BURNHAM; MORRIS, 2002). Segundo Liu et al. (2003), a idade do animal, o sexo, o nível de estresse pré-abate, a queda do pH durante o estabelecimento do rigor, a estimulação elétrica da carcaça após o abate, o grau de acabamento de gordura e a maturação são os principais fatores que interferem na maciez e conseqüentemente na qualidade da carne.

O aumento da idade tem efeito negativo sobre a maciez, a relação idade/maciez reflete não somente as mudanças cronológicas diretas nos tecidos

muscular e conjuntivo, mas também efeitos associativos devido ao aumento do tamanho corporal e da deposição de gordura na carcaça com a idade. A idade aumenta a característica grosseira da textura, mas nos músculos onde as fibras são pequenas esse aumento não é tão aparente como naqueles onde elas são grandes. Entretanto, o tamanho dos feixes de fibras não é o único fator a determinar a textura, a quantidade de perimísio que envolve cada feixe também é importante (LAWRIE, 2005).

A raça do animal também exerce efeito na textura da carne, embora nenhuma diferença marcante entre as raças tenha sido encontrada no conteúdo total de tecido conjuntivo. Outros fatores, dentre os quais a natureza química do colágeno, poderiam estar relacionados com a maciez da carne (LAWRIE, 2005). A gordura intramuscular (marmorização) tende a diluir o tecido conjuntivo dos elementos da fibra muscular na qual está depositada, essa deposição difere claramente entre as raças. A marmorização é o critério preliminar para classificação da qualidade da carcaça e da carne nos Estados Unidos e no Canadá, e é associada com uma melhor palatabilidade da carne por consumidores e pode conseqüentemente exercer um papel importante na decisão de compra (CHAMBAZ et al. 2003).

A impressão geral da maciez para o paladar inclui a textura e envolve três aspectos, a facilidade de penetração da carne pelos dentes, a facilidade com a qual a carne se fragmenta e, a quantidade de resíduo que permanece após a mastigação. De todos os atributos da qualidade sensorial, a textura e a maciez são consideradas como as mais importantes pelos consumidores e parecem ser procuradas em lugar do odor, sabor ou da cor (LAWRIE, 2005).

A satisfação em comer carne resulta da interação entre maciez, suculência e sabor. Durante o processo de produção da carne, há poucos fatores que provocam variação na suculência e no sabor, entretanto para a maciez vários fatores podem provocar uma variação no processo de amaciamento e uma redução da maciez resulta na redução de qualidade da carne consumida. Isto requer uma compreensão detalhada dos processos de amaciamento da carne e, da utilização dessa informação pela indústria da carne (KOOHMARAIE; KENT; SHACKELFORD, 2002).

O amaciamento da carne que ocorre durante a estocagem refrigerada, ou maturação, é conhecida desde o início do século. No entanto, o mecanismo através do qual ocorrem as modificações continuam sendo motivo de controvérsias. Este é um processo complexo que é afetado por muitas variáveis tais como a idade e

espécie do animal, a velocidade de glicólise, as quantidades e solubilidade do colágeno, o comprimento do sarcômero, a força iônica e a degradação das proteínas miofibrilares (FELÍCIO, 1994).

As possibilidades de explicar as variações na maciez da carne após o abate e a oportunidade de explorar as características fisiológicas dos músculos que podem alterar a maciez são valiosas na finalidade de melhorar esse atributo. Os principais fatores explorados são, as características da fibra muscular, atividades de calpaínas e calpastatinas, catepsinas e outras enzimas proteolíticas e, ainda, o índice de fragmentação de miofibrila e a força de cisalhamento (VESTERGAARD et al. 2000).

Após 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. Essa degradação é causada pelas enzimas proteolíticas como as calpaínas e as proteases lisossomais (SAVELL; MULLER; BAIRD, 2005).

Após o abate, essas proteases são ativadas devido ao aumento da concentração de cálcio muscular, melhorando a maciez da carne. Na carne, a concentração de cálcio é relativamente baixa, o que limita a atividade dessas proteases (GOLL et al. 1995).

O sistema proteolítico da calpaína que foi proposto como sendo o responsável pelo processo de maciez consiste em um sistema composto por μ -calpaína, m-calpaína e calpastatina. A proteólise das proteínas miofibrilares é a causa responsável pela maciez da carne. Essas proteínas estão envolvidas por ligações inter-miofibrilar (por exemplo, desmina e vinculina), intra-miofibrilar (titina, nebulina e possivelmente troponina T), ligação miofibrilar do sarcolema para os costômeros (vinculina e distropina), e transporte de células musculares para a lâmina basal. A função dessas proteínas é manter a estrutura e integridade das miofibrilas. A degradação dessas proteínas levaria a fragmentação das miofibrilas e conseqüentemente a maciez (KOOHMARAIE 1996 e KOOHMARAIE; KENT; SHACKELFORD, 2002).

Segundo Koohmaraie (1994), as modificações químicas e estruturais do processo de maturação da carne, no que diz respeito ao componente miofibrilar são: degradação da linha Z, que leva à fragmentação das miofibrilas, degradação da desmina que leva a fragmentação das miofibrilas, degradação da titina, degradação da nebulina e desaparecimento da troponina T e o aparecimento simultâneo de polipeptídeos, indicando a proteólise.

De acordo com Koohmaraie, Kent e Shackelford (2002), o comprimento do sarcômero, o índice de colágeno e a proteólise miofibrilar esclarecem a maioria das variações observadas na maciez da carne maturada. Entretanto, a contribuição relativa de cada um desses componentes é dependente do músculo, onde: O comprimento de sarcômero é o principal determinante no músculo *Psoas major*, a proteólise miofibrilar é a principal determinante no músculo *Longissimus*, o índice de colágeno é um contribuinte principal para a maciez de músculos como o *Bíceps femoris* e o *Semimembranosus*.

O encurtamento do sarcômero é o fator que causa a diminuição na maciez dos músculos do momento do abate até 24 horas pós-morte. Existem fortes relações entre a força de cisalhamento e o comprimento do sarcômero, os valores de força de cisalhamento diminuem exponencialmente quando os comprimentos do sarcômero aumentam (BOUTON et al. 1973 e KOOHARAIE, 1996).

Culler et al. (1978) propuseram que o índice de fragmentação miofibrilar (MFI) explica mais que 50% da variação da maciez na carne, e que o MFI tinha um efeito mais importante na maciez que a solubilidade do colágeno ou o comprimento do sarcômero.

Obus, Dikeman e Loughin (2003) e Lawrence et al. (2001), relatam mudanças na maciez da carne após o cozimento, provavelmente resultantes das alterações no tecido conjuntivo (solubilização do colágeno) e nas proteínas miofibrilares (desnaturação das proteínas), essas mudanças são dependentes do tempo e da temperatura que as carnes são cozidas.

Segundo Wheeler et al. (1994), o método de cozimento da carne deve ser um processo controlado e repetível, entretanto não deve realçar nem mascarar efeitos do tratamento, quando o objetivo da análise é encontrar diferenças de maciez entre músculos do *Longissimus dorsi*, as amostras devem ser cozidas a 70°C e os cilindros para medição da força de cisalhamento devem ser retirados paralelamente à fibra.

Muitos testes foram feitos para desenvolver métodos físicos e químicos de determinação da maciez que pudessem ser comparados com as determinações subjetivas que são feitas por meios dos painéis sensoriais. Assim os métodos físicos desenvolvidos incluiriam, como base para as medições, a força de cisalhamento, a mordida, a cominuição, a compressão e o estiramento da carne, já os métodos químicos envolvem a determinação do tecido conjuntivo e a digestão enzimática,

porém essas comparações entre testes físicos, químicos e subjetivos são muito difíceis (LAWRIE, 2005).

Os estudos da força de cisalhamento da carne são mais numerosos no campo da pesquisa da carne e, quase todos foram feitos com a técnica de Warner – Bratzler Shear Force, e realizados principalmente com a carne cozida, porém os resultados obtidos com esta técnica devem ser comparados com outros estudos (LEPETIT; CULIOLI, 1994).

A força de cisalhamento tem alta correlação com o painel sensorial para o músculo *Longissimus* desde que os protocolos sejam executados corretamente, entretanto a força de cisalhamento não reflete exatamente as diferenças de maciez entre os outros músculos (SHACKELFORD et al. 1997).

2.3 INDICE DE FRAGMENTAÇÃO MIOFIBRILAR (MFI)

Diversos fatores que afetam a maciez miofibrilar da carne foram identificados e pesquisados extensivamente. Entretanto, os relacionamentos entre estes fatores permanecem pouco conhecidos. O comprimento de sarcômero e a proteólise *post mortem* foram relacionados com a determinação da maciez miofibrilar da carne. Em alguns estudos foi observado um relacionamento fraco do comprimento de sarcômero com proteólises e com a maciez sob algumas circunstâncias (KING et al. 2003).

As medidas da degradação das proteínas musculares no *post mortem* tem sido realizadas através de inúmeras técnicas, dentre as quais destacam-se a eletroforese em gel, a determinação de aminoácidos livres e a fragmentação das miofibrilas (HOPKINS; LITTLEFIELD; THOMPSON, 2000).

A técnica da eletroforese em SDS-PAGE tem por finalidade evidenciar os padrões polimórficos das proteínas. É uma técnica que pode separar polipeptídeos de aproximadamente 10kDa e é muito utilizada para análises qualitativa de proteínas, porém não são usadas freqüentemente com finalidade quantitativa (CLAEYS et al. 2004).

Para a técnica de fragmentação miofibrilar, dois métodos são comumente usados. O primeiro requer a homogeneização do músculo e a análise das miofibrilas por um microscópio. O índice de fragmentação miofibrilar (MFI) é calculado então determinando a porcentagem das miofibrilas. O segundo método envolve também a homogeneização do músculo, seguido pela determinação do índice de proteína e da medida da turvação das amostras ajustadas a uma concentração comum de proteína (HOPKINS; LITTLEFIELD; THOMPSON, 2000). A primeira técnica não necessariamente considera a degradação das ligações inter-miofibrilares que ocorre enquanto a carne é maturada. O segundo método é o mais usado e, reflete a degradação das estruturas das proteínas na banda I do sarcômero e, tem alta correlação com as análises de maciez (HOPKINS; MARTIN; GILMOUR, 2004).

O procedimento de MFI reflete a intensidade da proteólise das miofibrilas. Evidentemente, as miofibrilas submetidas ao processo de maturação tem maior degradação que aquelas de músculos intactos (CROUSE; KOOHMARAIE 1990). As mudanças na estrutura miofibrilar resultam no aumento dos valores da força de cisalhamento sobre as escalas de cozimento a temperaturas de 40 a 60° C e 60 a 80° C, e os aumentos são independentes do estado de contração do músculo, mas existem evidências que o tecido conjuntivo contribui para o decréscimo da força de cisalhamento quando a temperatura de cozimento da carne de animais jovens foi acima de 50° C e de animais velhos acima de 60°C (BEILKEN; MACFARLANE; JONES, 1990).

O MFI é importante porque explica mais de 50% da variação da maciez da carne maturada normalmente, e é altamente correlacionado com índices de maciez como a força de cisalhamento e com o painel sensorial. O MFI tem relação inversa com a força de cisalhamento, pois a medida que aumenta o MFI diminuem os valores obtidos pela força de cisalhamento (CULLER et al. 1978, CROUSE; KOOHMARAIE 1990, OLSON; PARRISH, 1977).

2.4 MÉTODOS DE SUSPENSÃO

A maciez da carne é um importante atributo para a carne de qualidade. Em um esforço para melhorar a maciez da carne, muitos pesquisadores têm tentado controlar o encurtamento do sarcômero durante o desenvolvimento do rigor mortis. Para isso, métodos de estiramento muscular no pré-rigor foram extensivamente estudados, primeiramente com o *tenderstretch*, passando pelo aumento da tensão dos músculos com pesos ou dispositivos mecânicos (SHANKS et al. 2002).

Segundo Herring, Gassens e Briskey (1965), a maciez da carne esta aparentemente relacionada com o decréscimo da contração muscular e é determinada pelo comprimento do sarcômero. Os métodos de suspensão de carcaças produzem diferenças significativas tanto no comprimento do sarcômero quanto na força de cisalhamento. As carcaças que foram dispostas horizontalmente tiveram valores menores de comprimento de sarcômero porque esta posição se aproxima da condição fisiológica do animal. A suspensão da carcaça força a extensão dos membros posteriores, diminuindo a tensão de certos músculos, permitindo que haja um certo encurtamento durante o processo de rigor mortis. Entretanto, quando a carcaça é disposta horizontalmente esses músculos podem encurtar de outra maneira, restando o alongamento dos sarcômeros, provavelmente livre o suficiente para prevenir a tensão durante o processo de *rigor mortis*.

Ainda de acordo com Herring, Gassens e Briskey (1965), o diâmetro das fibras também apresentou relação com o comprimento dos sarcômeros. Os músculos que tiveram os lados de carcaça suspensos pelo tendão de Aquiles apresentaram um fino diâmetro de fibras, e as miofibrilas esticadas. Já os músculos das carcaças dispostas horizontalmente tiveram um grande diâmetro de fibras, e mais miofibrilas contraídas. Os músculos que apresentaram menores diâmetros de fibra quando a meia carcaça foi suspensa correspondem aos músculos que na outra meia carcaça foram dispostos horizontalmente e tiveram menores comprimentos de sarcômero. Os músculos que tiveram menor diâmetro de fibra quando o lado da carcaça foi suspenso verticalmente quando comparados com os lados dispostos horizontalmente foram *Psoas major*, *Latissimus dorsi* e *Rectus femoral*,

inversamente os músculos que tiveram o diâmetro da fibra aumentado foram *Bíceps femoris*, *Semimembranosus*, e *Tríceps brachii*.

Hostetler et al. (1972), examinaram diferentes alternativas de suspensão de carcaças comparando com o método tradicional de suspensão vertical pelo tendão de Aquiles. No tratamento horizontal que assumiu a posição similar a encontrada no animal vivo, os membros torácicos e pélvicos foram amarrados para manter a carcaça em posição relativa com a coluna vertebral. O tratamento *neck-tied* que usou o peso da carcaça para manter o membro pélvico assim como o torácico perpendicular a coluna vertebral. *Hip-free* suspensão pelo forâmen obturador com membros livres e *hip-tied* suspensão pelo forâmen obturador com membros amarrados para testar o peso no membro torácico. A suspensão pelo forâmen obturador *Hip-free* foi o método mais benéfico porque resultou em geral no aumento do comprimento do sarcômero e melhorou a maciez do *Longissimus dorsi* e da maioria dos músculos do traseiro.

A suspensão das carcaças pelo osso pélvico, em substituição ao processo convencional de apoio no tendão de Aquiles, permitiu que a carne do quarto traseiro se tornasse mais macia, à exceção do *Psoas Major* que foi mantido distendido. A explicação é dada pelo grau de tensão que influi parcialmente no nível do encurtamento provocado pelo *rigor mortis*. Assim são muito mais macios os músculos que apresentam a tensão máxima durante o rigor, apresentando sarcômeros mais longos e ficando, conseqüentemente num estado reduzido de contração após o rigor, sendo assim mais tenros do que os músculos que se deixam encurtar livremente (PARDI et al. 2001).

Nos últimos anos um outro método chamado de *tendercut* vem sendo desenvolvido para melhorar a maciez dos músculos, consiste em cortar os ossos e músculos em duas posições *mid loin* e na junção *round/sirloin* das carcaças logo após o abate e mantê-las suspensas pelo Tendão de Aquiles, o comprimento de sarcômero e a maciez aumentam para diversos músculos, o (*tendercut*) é mais trabalhoso que o *tenderstretch* e ainda não tem sido aplicado na indústria (SORHEIN et al. 2001).

Luchiari Filho et al. (2005), avaliaram os efeitos de um novo método de suspensão de carcaças pelo músculo Carpo Radial chamado de suspensão *forequarter* ou “tenderbife” comparando com a suspensão pelo Tendão de Aquiles

esse novo método apresentou menores valores de força de cisalhamento para o *Longissimus dorsi* de carcaças suspensas pelo carpo radial, resultando em uma melhoria significativa na maciez do músculo *Longissimus dorsi* sem causar um efeito negativo no músculo *Bíceps femoris*.

O estiramento muscular pela suspensão alternativa da carcaça, que foi desenvolvido aproximadamente há 30 anos, é uma possibilidade de impedir a contração do músculo no rigor, e assim melhorar a maciez. Atualmente, a indústria da carne está olhando para esses métodos com um interesse renovado, e a suspensão de carcaças pelo forâmen do obturador *tenderstretch* vem sendo usada para melhorar a maciez da carne na Irlanda e na Inglaterra (SORHEIM et al. 2001).

Na prática a suspensão pelo forâmen do obturador é aplicável na linha de abate, só necessitando um deslocamento na posição de pendura que ao invés de usar o tendão de Aquiles, usaria o osso pélvico. Mas uma grande desvantagem desse método é que os membros traseiros formam um ângulo de 90°, e requerem espaço adicional nas câmaras de resfriamento (SORHEIM et al. 2001). Apesar de ser considerado um método efetivo para se obter uma carne mais macia, o método de suspensão pelo forâmen obturador não é muito difundido, e sofre restrições porque os frigoríficos precisam investir em mudanças nas estruturas físicas para que exista possibilidade de se efetuar a pendura através de outra parte anatômica do animal.

3 MFI E MACIEZ DA CARNE DE BOVINOS SUBMETIDOS A SUSPENSÃO TRADICIONAL OU PELA TÉCNICA HORIZONTAL DE RESFRIAMENTO DAS CARCAÇAS.

3.1 MATERIAL E MÉTODOS

3.1.1 LOCAL DE EXECUÇÃO

O presente trabalho foi realizado em duas fases. A primeira fase do experimento foi realizada no Matadouro–escola da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), com animais do próprio campus. A segunda etapa consistiu nos ensaios laboratoriais conduzidos no Laboratório de Bioquímica de Proteínas do Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências, da Universidade Estadual de São Paulo (Unesp) – “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu - SP.

3.1.2 ANIMAIS

Na primeira etapa do trabalho foram utilizados 10 animais machos castrados, da raça Nelore (*Bos indicus*), com média de 35 meses e peso vivo médio de 498,4 kg, provenientes do rebanho do campus da FZEA. Estes animais foram abatidos no Matadouro - Escola, e durante o abate foram coletados peso de carcaça médio de 274,2 kg e espessura de gordura subcutânea de 4,6 mm entre a 12ª e 13ª costelas após a divisão longitudinal. Cada meia carcaça foi manejada de acordo com o

respectivo tratamento: 10 meias carcaças foram suspensas pelo Tendão de Aquiles (Foto 1) em lados alternados e as outras 10 meias carcaças foram deitadas, posicionadas com a porção ventral voltada para baixo apoiada sob *pallets* (Foto 2). As meias carcaças foram mantidas em câmara frigorífica, a 4°C, por 24 horas.

Foto 1: Pendura tradicional.

Foto 2: Carcaça disposta horizontalmente em *pallets*.

Após 24 horas na câmara frigorífica, foi feita a separação em quartos (traseiro especial, dianteiro com 5 costelas e ponta de agulha) e a seguir a desossa das meias carcaças, para avaliações e coletas de cortes de carnes. Foi coletado um bife de 2,54 cm de espessura, de cada meia carcaça, do contra-filé (*M. Longissimus dorsi*) situado entre a 12ª e a 13ª vértebra torácica. Esses bifês foram embalados a vácuo e maturados por sete dias, sendo congelados posteriormente em freezer (-20°C) até a realização das análises.

3.1.3 ÍNDICE DE FRAGMENTAÇÃO MIOFIBRILAR (MFI)

A determinação do Índice de Fragmentação Miofibrilar (MFI) foi realizada conforme metodologia descrita por CULLER et al. (1978). Foram utilizadas amostras do músculo *Longissimus dorsi* na região da 12ª costela submetidas a sete dias de maturação. Utilizaram-se três gramas do músculo *Longissimus dorsi* livres de gordura e de tecido conjuntivo. As amostras foram homogeneizadas em *Ultra – turrax* com haste de cisalhamento (Marconi – MA 102/E) a 18000rpm em 30mL de Tampão de Índice de Fragmentação Miofibrilar (TMFI) à 2°C (100mM KCl, 20mM de fosfato de potássio pH 7,0, 1mM EDTA, 1mM MgCl₂ e 1mM NaN₃, pH7,0) duas vezes por 30 segundos com mesmo intervalo em gelo (Foto 3). Após a homogeneização as amostras foram centrifugadas a 1000xg por 15 minutos à 2°C e o sobrenadante foi descartado. O *pellet* foi ressuspendido em 30mL de TMFI à 2°C e homogeneizado com bastão de vidro.

Foto 3: Ultra- Turrax, usado na homogeneização das amostras.

As amostras foram centrifugadas a 1000xg por 15 minutos à 2°C e o sobrenadante foi novamente descartado. O *pellet* foi então ressuspendido em 7,5mL de TMFI à 2°C e submetido ao *vortex* até a amostra tornar-se bastante homogênea para ser filtrada em filtro de polietileno com malha de 1,0mm. Foram adicionados 7,5mL de TMFI à 2°C para lavagem do tubo de centrifuga e auxiliar na filtragem. Foi feita quantificação de proteínas miofibrilares totais pelo método do Macro Biureto (GORNALL; BARDAWILL; DAVID, 1949). Para a determinação de MFI as amostras foram preparadas com o TMFI para um volume final de 8,0 mL e concentração de proteína 0,5 mg/mL.

As amostras foram homogeneizadas por agitação vigorosa e então submetidas à leitura em absorbância no comprimento de onda de 540nm. O valor do MFI foi obtido pelo seguinte cálculo:

$$\text{MFI} = \text{absorbância} \times 200.$$

3.1.4 PERDA DE ÁGUA NO COZIMENTO

O restante de cada bife (*Longissimus dorsi*) foi utilizado para os testes de perda de água no cozimento e de maciez. No cozimento usaram-se bandejas de vidro acopladas a grades de ferro onde foram dispostos os bifes, inicialmente pesaram-se as bandejas com os bifes sobre as grades antes de assar, e após o cozimento as bandejas com as amostras assadas, e por fim somente as bandejas. Essas pesagens foram feitas em uma balança semi-analítica e a relação percentual de perda de peso das bandejas com as amostras foi relacionada às perdas por evaporação, e o acréscimo de peso das bandejas após o cozimento e sem as amostras representou as perdas por gotejamento que acrescidas às perdas por evaporação resultaram nas perdas totais de cozimento.

As amostras foram assadas em forno elétrico automático (modelo Diplomata, marca Fischer) à temperatura de 205°C. A temperatura interna (aproximadamente centro geométrico) dos bifes foi acompanhada com um termômetro digital (modelo

IOP Therm 46, marca IOPE) com sonda (fina) metálica de perfuração. Quando essa temperatura alcançou cerca de 40,5°C, os bifes foram virados, para que a outra superfície fosse assada. Os bifes foram retirados do forno quando a temperatura interna alcançou valores da ordem de 71°C, e pesados na mesma balança.

3.1.5 FORÇA DE CISALHAMENTO

Para a determinação da força de cisalhamento foi utilizado o procedimento proposto por Wheeler, Koohmaraie e Shackelford (1995). Quando do início das análises as amostras foram descongeladas sob refrigeração (4°C) durante 24 horas. Logo após o descongelamento as amostras foram assadas. No procedimento de cozimento foi introduzido no centro geométrico de cada amostra um termoacoplador ligado em termômetro digital, com o objetivo de monitorar a temperatura interna até o limite de 71°C. As amostras foram então colocadas em resfriamento (5 a 6°C) durante 24 horas, quando se iniciou a retirada de oito cilindros com 12,7 mm de espessura cada (Foto 4). Na determinação da força de cisalhamento utilizou-se um *Warner-Bratzler Shear Force* mecânico com capacidade de 25Kg e velocidade do seccionador de 20 cm/minuto (Foto 5). Foi utilizada então a média de oito medidas por amostras.

Foto 4: Vazador Mecânico para a retirada dos cilindros de 12,7 mm.

Foto 5: Warner – Braztler Shear Force para análise de maciez

3.1.6 ANALISES ESTATÍSTICAS

O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, e as análises foram realizadas como dados pareados e as médias dos tratamentos comparados através do procedimento UNIVARIATE do Software SAS (SAS. Institute Inc., Cary, NC).

3.2 RESULTADOS

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1. Não houve diferença ($p>0,05$) entre a espessura de gordura subcutânea para as amostras de carcaças submetidas aos dois métodos de suspensão, a média para suspensão pelo tendão de Aquiles foi 4,6 mm e para a disposição horizontal 4,7 mm. Os resultados de perdas de água ao cozimento não foram diferentes ($p>0,05$), e foram semelhantes aos resultados relatados por VESTERGAARD et al. (2000), que encontraram valores médios de perda de água no cozimento de 15,0%.

Tabela 1: Valores médios e erro padrão de espessura de gordura subcutânea (EGS), perdas totais (PT), perdas por evaporação (PE), perdas por gotejamento (PG), força de cisalhamento (FC) e índice de fragmentação miofibrilar (MFI) dos músculos submetidos a dois tipos de suspensão

Item	Tendão de Aquiles	Horizontal
N	10	10
EGS (mm)	4,6 ^a ± 0,72	4,7 ^a ± 0,58
PT (%)	18,8 ^a ± 0,97	21,9 ^a ± 1,34
PE (%)	15,5 ^a	17,6 ^a
PG (%)	3,3 ^a	4,3 ^a
FC (Kg)	4,5 ^a ± 0,29	4,2 ^a ± 0,32
MFI	76,5 ^a ± 4,36	77,7 ^a ± 6,34

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ($p<0,05$) pela análise de dados pareados.

As médias dos valores de força de cisalhamento (Tabela 1), não foram diferentes entre os dois métodos de suspensão ($p>0,05$) e os resultados encontrados para a disposição horizontal de carcaças foram semelhantes aos

encontrados por Hostetler et al. (1972). Observou-se que pela média da força de cisalhamento pode-se considerar que as carnes encontravam-se dentro dos padrões adequados para o consumo quanto a maciez. De acordo com Shackelford et al. (1991) e Judge et al (1989) a carne bovina é considerada macia, quando os valores de força de cisalhamento são inferiores a 4,5 kg.

Analisando os métodos de medição de maciez observa-se que somente 6% das amostras que foram consideradas macias pela força de cisalhamento foram consideradas duras para o MFI, e 41% das amostras que foram determinadas como duras pela força de cisalhamento foram consideradas macias pelo MFI e 53% das amostras determinadas macias pela força de cisalhamento foram macias também pela análise de MFI (Gráfico 1).

Gráfico 1: Frequência cruzada entre Força de Cisalhamento (FC) e MFI das análises realizadas com a suspensão pelo Tendão de Aquiles e carcaças dispostas horizontalmente.

Os valores de MFI (tabela 1) não foram diferentes ($p>0,05$) entre os dois métodos, assim como a força de cisalhamento. O MFI não apresentou boas correlações com a força de cisalhamento, resultando no valor de $r=0,16$, portanto o MFI não apresentou correlação com a força de cisalhamento.

Segundo Culler et al. (1978) o MFI é responsável por 50% das variações na maciez da carne. Os mesmos autores encontraram uma correlação do MFI com a

força de cisalhamento, sendo que, um índice de fragmentação acima de 60 caracteriza uma carne muito macia, valores entre 50 e 60 indicam maciez moderada e valores inferiores a 50 são atribuídos a falta de maciez. As médias para MFI encontradas neste trabalho para os dois métodos (76,5 e 77,7 para Tradicional e horizontal, respectivamente) caracterizam a carne como muito macia, porém o MFI é eficaz em detectar a proteólise enzimática, não tendo habilidade em identificar variações devido a outras características.

3.3 CONCLUSÕES

As análises de força de cisalhamento e MFI não apresentaram diferença entre os métodos de suspensão, não podendo determinar influência na maciez da carne. A correlação entre o MFI e a força de cisalhamento foi baixa não sendo então a proteólise responsável pelas variações na força de cisalhamento e maciez da carne, portanto mais estudos são necessários para verificar variações que possam interferir no amaciamento da carne.

4 MFI E MACIEZ DA CARNE DE BOVINOS SUBMETIDOS A SUSPENSÃO PELO TENDÃO DE AQUILES OU PELO CARPO RADIAL

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1.1 LOCAL DE EXECUÇÃO

O presente trabalho foi realizado em duas fases. A primeira fase do experimento foi realizada num frigorífico comercial. A segunda etapa consiste nos ensaios laboratoriais conduzidos no Laboratório de Bioquímica de Proteínas do Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências, da Universidade Estadual de São Paulo (Unesp) – “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu - SP.

4.1.2 ANIMAIS

Na primeira etapa do trabalho foram utilizados 32 animais (16 machos e 16 fêmeas), anelorados, que continham até quatro dentes para constituir um grupo homogêneo com idade média de 30 meses. Estes animais foram divididos em dois dias de abate com oito fêmeas e oito machos para cada dia, abatidos e em seguida coletados os pesos de carcaça quente e espessura de gordura subcutânea entre a 12ª e 13ª costelas após a divisão longitudinal. Os valores médios encontrados para cada medida dentro do lote estão na tabela 2.

Tabela 2: Valores médios de peso de carcaça (PMC) e espessura de gordura subcutânea (EGS) para os dois dias de abate

Medidas	1º Dia de abate		2º Dia de abate	
	Machos	Fêmeas	Macho	Fêmea
PMC (kg)	280,35	255,44	256,85	268,66
EGS (mm)	3,8	4,4	4,2	5,7

Cada meia carcaça foi manejada de acordo com o respectivo tratamento: 16 meias carcaças de bovinos machos e outras 16 meias carcaças de bovinos fêmeas foram suspensas pelo Tendão de Aquiles método convencional, em lados alternados e 16 meias carcaças de bovinos machos e outras 16 meias carcaças de bovinos fêmeas foram suspensas pelo músculo carpo radial do dianteiro em lados alternados (Foto 6). Após o toalete, as meias carcaças foram mantidas em câmara frigorífica, a 4°C, por 24 horas.

Foto 6: Carcaças suspensas através da pendura tradicional pelo tendão de Aquiles (TA) ou suspensão pelo Carpo Radial (CR).

Após 24 horas na câmara frigorífica, foi feita a separação em quartos (traseiro especial, dianteiro com 5 costelas e ponta de agulha) seguindo-se a desossa das meias carcaças, para avaliações e coletas de amostras. Foi coletado um bife de 2,54 cm de espessura, de cada meia carcaça, do contra-filé (*M. Longissimus dorsi*) situado entre a 12ª e a 13ª vértebra torácica. Esses bifos foram embalados a vácuo e foram maturados por sete dias sendo congelados posteriormente em freezer (–20°C) até a realização das análises.

4.1.3 ÍNDICE DE FRAGMENTAÇÃO MIOFIBRILAR (MFI)

A determinação do Índice de Fragmentação Miofibrilar (MFI) foi realizada conforme metodologia descrita por Culler et al. (1978). Foram utilizadas amostras do músculo *Longissimus dorsi* na região da 12ª costela submetidas a sete dias de maturação. Utilizaram-se três gramas do músculo *Longissimus dorsi* livres de gordura e de tecido conjuntivo. As amostras foram homogeneizadas em *Ultra – turrax* com haste de cisalhamento (Marconi – MA 102/E) a 18000 rpm em 30 mL de Tampão de Índice de Fragmentação Miofibrilar(TMFI) à 2°C (100mM KCl, 20mM de fosfato de potássio pH 7,0, 1mM EDTA, 1mM MgCl₂ e 1mM NaN₃, pH7,0) duas vezes por 30 segundos com mesmo intervalo em gelo. Após a homogeneização as amostras foram centrifugadas a 1000xg por 15 minutos à 2°C e o sobrenadante foi descartado (Foto 7). O *pellet* foi ressuspensionado em 30mL de TMFI à 2°C e homogeneizado com bastão de vidro.

As amostras foram centrifugadas a 1000xg por 15 minutos à 2°C e o sobrenadante foi novamente descartado (Foto 8). O *pellet* foi então ressuspensionado em 7,5mL de TMFI à 2°C e submetido ao *vortex* até a amostra tornar-se bastante homogênea para ser filtrada em filtro de polietileno com malha de 1,0mm aproximadamente. Foram adicionados 7,5 mL de TMFI à 2°C para lavagem do tubo de centrifuga e auxiliar na filtragem. Foi feita quantificação de proteínas miofibrilares

totais pelo método do Macro Biureto (GORNALL; BARDAWILL; DAVID, 1949). Para a determinação de MFI as amostras foram preparadas com o TMFI para um volume final de 8,0mL e concentração de proteína 0,5mg/mL.

Foto 7: Primeira centrifugação das amostras após a homogeneização

Foto 8: Segunda centrifugação das amostras.

As amostras foram homogeneizadas por agitação vigorosa e então submetidas à leitura em absorbância no comprimento de onda de 540 nm. O valor do MFI foi obtido pelo seguinte cálculo:

$$\text{MFI} = \text{absorbância} \times 200.$$

4.1.4 PERDA DE ÁGUA NO COZIMENTO

O restante de cada bife (*Longissimus dorsi*) foi utilizado para os testes de perda de água no cozimento e de maciez. No cozimento usaram-se bandejas de vidro acopladas a grades de ferro onde foram dispostos os bifes, inicialmente pesaram-se as bandejas com os bifes sobre as grades antes de assar, e após o cozimento as bandejas com as amostras assadas, e por fim somente as bandejas. Essas pesagens foram feitas em uma balança semi-analítica e a relação percentual

de perda de peso das bandejas com as amostras foi relacionada às perdas por evaporação, e o acréscimo de peso das bandejas após o cozimento e sem as amostras representou as perdas por gotejamento que acrescidas às perdas por evaporação resultaram nas perdas totais de cozimento. As amostras foram assadas em forno elétrico automático (modelo Diplomata, marca Fischer) à temperatura de 205°C. A temperatura interna (aproximadamente centro geométrico) dos bifes foi acompanhada com um termômetro digital (modelo IOP Therm 46, marca IOPE) com sonda (fina) metálica de perfuração. Quando essa temperatura alcançou cerca de 40,5°C, os bifes foram virados, para que a outra superfície fosse assada. Os bifes foram retirados do forno quando a temperatura interna alcançou valores da ordem de 71°C, e pesados na mesma balança.

4.1.5 FORÇA DE CISALHAMENTO

Para a determinação da força de cisalhamento foi utilizado o procedimento proposto por Wheeler, Koohmaraie e Shackelford (1995). Quando do início das análises as amostras foram descongeladas sob refrigeração (4°C) durante 24 horas. Logo após o descongelamento as amostras foram assadas. No procedimento de cozimento foi introduzido no centro geométrico de cada amostra um termoacoplador ligado em termômetro digital, com o objetivo de monitorar a temperatura interna até o limite de 71°C. A seguir as amostras foram colocadas em resfriamento (5 a 6°C) durante 24 horas, quando se iniciou a retirada de oito cilindros com 12,7 mm de espessura cada (Foto 9). Na determinação da força de cisalhamento utilizou-se um *Warner-Bratzler Shear Force* mecânico com capacidade de 25Kg e velocidade do seccionador de 20 cm/minuto (Foto 10). Foi utilizada então a média de oito medidas por amostras.

Foto 9: Retirada dos Cilindros de 12,7 mm para análise de maciez.

Foto 10: Warner – Braztler Shear Force.

4.1.6 ANALISES ESTATÍSTICAS

O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado com 2 tratamentos e 2 sexos, e as análises foram realizadas como dados pareados e as médias dos tratamentos comparados através do procedimento UNIVARIATE do Software SAS (SAS. Institute Inc., Cary, NC).

4.2 RESULTADOS

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 3. Não houve diferença ($P>0,05$) entre as médias de espessura de gordura para as amostras de carcaças submetidas aos dois métodos de suspensão. Mas comparando os sexos a espessura de gordura subcutânea foi maior ($P<0,05$) nas fêmeas em relação aos machos, que pode ser explicado pelo fato do sexo influenciar no crescimento dos tecidos, afetando sua composição e distribuição. Por isso as fêmeas atingem a fase de acabamento primeiro. Os resultados de perdas de água ao cozimento encontrado tanto para sexo quanto para suspensão não foram diferentes ($P>0,05$), Ludwig et al. (1997) trabalhando com suspensão tradicional e (tendercut) encontrou valores semelhantes de perdas de água por cocção (22,1% e 21,9% respectivamente).

TABELA 3: Valores médios e erro padrão de espessura de gordura subcutânea (EGS), perdas totais (PT), perdas por evaporação (PE), Perdas por gotejamento (PG), força de cisalhamento (FC) e índice de fragmentação miofibrilar (MFI) para o “Longissimus dorsi” diferenciados por sexo e método de suspensão

Características	Sexo		Suspensão	
	Fêmea	Macho	Tendão de Aquiles	Horizontal
N	32	32	32	32
EGS (mm)	$5,0^a \pm 0,30$	$4,1^b \pm 0,30$	$4,2^a \pm 0,30$	$4,8^a \pm 0,30$
PT %	$21,2^a \pm 2,78$	$23,4^a \pm 2,78$	$22,7^a \pm 2,78$	$21,9^a \pm 2,78$
PE %	$15,2^a$	$17,9^a$	95^a	92^a
PG %	$6,0^a$	$5,6^a$	91^a	104^a
FC (kg)	$3,2^a \pm 0,10$	$3,4^a \pm 0,10$	$3,4^a \pm 0,10$	$3,2^a \pm 0,10$
MFI	$83,9^a \pm 3,11$	$91,2^b \pm 3,11$	$83,9^a \pm 3,11$	$91,3^b \pm 3,11$

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ($p<0,05$).

A força de cisalhamento, também não foi influenciada pelo método de suspensão ou pelo sexo dos animais ($P>0,05$), diferentemente do encontrado por Luchiari Filho et al (2005) que trabalhando com suspensão tradicional e suspensão pelo carpo radial encontraram valores de força de cisalhamento de 4,78 Kg e 3,53 Kg respectivamente para os métodos de suspensão de carcaças sendo significativamente diferentes. De acordo com Shackelford et al. (1991) a carne bovina é considerada macia, quando os valores de força de cisalhamento são inferiores a 4,5 kgf, os valores encontrados foram 3,2 e 3,4 para fêmea e macho respectivamente e 3,2 e 3,4 para suspensão pelo carpo radial e suspensão pelo tendão de Aquiles.

Entretanto observa-se uma variação individual muito grande que pode ser atribuída as alterações bioquímicas que ocorrem no músculo durante a fase *post mortem*. Porém, as médias individuais para os valores de força de cisalhamento não ultrapassam o valor de 4,73 kg . Assim as médias encontradas caracterizam a carne como macia.

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 3, o MFI foi maior no *Longissimus dorsi* dos machos ($P<0,05$) em relação as fêmeas. As médias para os dois métodos de suspensão também apresentaram efeito ($P<0,05$) sobre o MFI, com menores valores para as carcaças suspensas pelo Tendão de Aquiles, essa diferença equivale a 8,9% a mais de proteólise enzimática para a carne da suspensão pelo carpo radial em relação a carne da suspensão pelo Tendão de Aquiles. Mas essas diferenças obtidas entre as análises de MFI não são observadas nas análises de força de cisalhamento.

Analisando os métodos de medição de maciez observa-se que somente 2% das amostras que foram consideradas macias pela força de cisalhamento foram consideradas duras para o MFI, e 5% das amostras que foram determinadas como duras pela força de cisalhamento foram consideradas macias pelo MFI e 93% das amostras determinadas macias pela força de cisalhamento foram macias também pela análise de MFI (Gráfico 2).

Gráfico 2: Frequência cruzada entre Força de Cisalhamento (FC) e MFI das análises realizadas com as suspensões pelo Tendão de Aquiles e Carpo radial.

Segundo Culler et al. (1978) o MFI é responsável por 50% das variações na maciez da carne existindo uma correlação do MFI com a força de cisalhamento, e a medida que aumenta o índice de fragmentação miofibrilar, diminui a força de cisalhamento, indicando uma carne macia. Porém, neste estudo não foi observada uma diferença estatística para força de cisalhamento, e o MFI não apresentou boas correlações com a força de cisalhamento resultando no valor de $r = 0,11$, portanto o MFI não foi responsável pelas variações na força de cisalhamento.

Um índice de fragmentação acima de 60 caracteriza uma carne muito macia, e valores abaixo de 60 indicam maciez moderada e valores inferiores a 50 são atribuídos a falta de maciez (CULLER et al.1978). As médias para MFI encontradas neste trabalho caracterizam a carne como muito macia independente do sexo ou tratamento.

4.3 CONCLUSÕES

As análises de força de cisalhamento não apresentaram diferença entre os métodos de suspensão ou sexo, diferente das análises de índice de fragmentação miofibrilar onde o maior valor para a suspensão pelo carpo radial foi encontrado, indicando uma maior proteólise. Mas neste estudo a medida que aumentou o MFI não ocorreu a diminuição na força de cisalhamento uma hipótese que pode explicar esse resultado é a correlação entre o MFI e a força de cisalhamento que foi baixa e por isso não é possível afirmar que a proteólise foi responsável pelas variações na força de cisalhamento e maciez da carne. Mais estudos são necessários para verificar variações que possam interferir no amaciamento da carne durante o processo *post mortem*.

REFERÊNCIAS

BEILKEN, S. L.; MACFARLANE, J. J.; JONES, P. N. Effect of high pressure during heat treatment on the Warner – Bratzler shear force values of selected beef muscles. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 55, p. 15-18, 1990.

BOUTON, P. E. et al. A comparison of the effects of some post – slaughter treatments on the tenderness of beef. **Journal of Food Technology**, Oxford, v. 8 p. 39-49, 1973.

CHAMBAZ, A. et al. Meat quality of Angus, Simmental, Charolais and Limousin steers compared at the same intramuscular fat content. **Meat Science**, Barking, v. 63, p. 491-500, 2003.

CLAYES, E., et al. Quantification of fresh meat peptides by SDS-PAGE in relation to ageing time and taste intensity. **Meat Science**, Barking, v. 67, p. 281-288, 2004.

CROUSE, J. D.; KOOHMARAIE, M. Effect of time of sampling postmortem on myofibril fragmentation index of meat. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 55, p. 254-256, 1990.

CULLER, R. D. et al. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, p. 1177-1180, 1978.

FELÍCIO, P. E. Dois aspectos de competitividade da carne de *Bos indicus*, um positivo, outro negativo. In: I CONGRESSO BRASILEIRO DAS RAÇAS ZEBUÍNAS. **Anais...** Associação Brasileira de Criadores de Zebu. Uberaba MG, p. 63-71.1994.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **September 2005 meat market assessment**. 2005. Disponível em: <http://www.fao.org/es/esc/en/20953/21014/highlight_27269en_p.html>. Acesso em: 09 out. 2005.

GOLL, D. E. et al. Does proteolysis cause all postmortem tenderization, or are changes in the actin/myosin interaction involved? In: 41st International Congress of Meat Science and Technology, Texas, 1995. **Proceedings...** p. 537-544.

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

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

HOSTETLER, R. L. et al. Effect of carcass suspension on sarcomere length and shear force of some major bovine muscles. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 37, p. 132-135, 1972.

HOPKINS, D. L.; LITTLEFIELD, P. J.; THOMPSON, J. M. A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. **Meat Science**, Barking, v. 56, p. 19-22, 2000.

HOPKINS, D. L.; MARTIN, L.; GILMOUR, A. R. The impact of homogenizer type and speed on the determination of myofibrillar fragmentation. **Meat Science**, Barking, v. 67, p. 705-710. 2004.

JUDGE, M. et al. **Principles of Meat Science**. Dubuque: Kendall/Hunt, 1989.

KING, D. A. et al. Chilling and cooking rate effects on some myofibrillar determinants of tenderness of beef. **Journal of Animal Science**, Champain, v. 81, p. 1473-1481, 2003.

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

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

KOOHMARAIE, M. et al. Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? **Meat Science**, Barking, v.62, p.345–352. 2002.

LAWRENCE, T.E. et al. Evaluation of electric belt grill, forced-air convection oven, and electric broiler cookery methods for beef tenderness research. **Meat Science**, Barking, v. 58 p. 239-246. 2001.

LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LEPETIT, J.; CULIOLI, J. Mechanical Properties of meat. **Meat Science**, Barking, v. 36 p.203-237.1994.

LIU, Y. et al. Prediction of color, texture, and sensory characteristics of beef steaks by visible and near infrared reflectance spectroscopy. A feasibility study. **Meat Science**, Barking, v. 65, p.1107-1115, 2003

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo, 2000.

LUCHIARI FILHO, A. et al. Hanging the carcass by the forequarter to improve tenderness of the *Longissimus dorsi* and *Biceps femoris* muscles. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 62, n.5, p.483-486, 2005.

LUDWIG, C. J. et al. Skeletal Alteration to Improve Beef Longissimus Muscle Tenderness. **Journal of Animal Science**, Champain, v. 75, p. 2404-2410, 1997.

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, 2003.

OLSON, D. G.; PARRISH JR, F. C. Relationship of myofibril fragmentation index to measures of beefsteak tenderness. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 42, p.506-509, 1977.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2. ed. Goiânia: UFG, 2001.

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

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

SHACKELFORD, S. D. et al. An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. **Journal of Animal Science**, Champain, v. 69, p. 171-177, 1991.

SHACKELFORD, S. D.; WHELLER, T. L.; KOOHMARAIE, M. Repeatability of tenderness measurements in beef round muscles. **Journal of Animal Science**, Champain, v. 75, p. 2411-2416, 1997.

SHANKS, B. C., et al. Increasing tenderness of beef round and sirloin muscles through prerigor skeletal separations. **Journal of Animal Science**, Champain, v. 80, p. 123-128, 2002.

SORHEIM, O. et al. Influence of beef carcass stretching and chilling rate on tenderness of "m. Longissimus dorsi". **Meat Science**, Barking, v. 57, p. 79-85, 2001.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **User's guide: statistics**. Cary: SAS, 1995.

STEEN, D. et al. Early post-mortem conditions and the calpain/ calpastatin system in relation to tenderness of double – muscled beef. **Meat Science**, Barking, v. 45, p. 307-319, 1997.

THOMPSON, J. Managing meat tenderness. **Meat Science**, Barking, v. 62, p.295-308, 2002.

VESTERGAARD. M. et al. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on meat and eating quality of young bulls and the relationship between muscle fibre characteristics, fibre fragmentation and meat tenderness. **Meat Science**, Barking, v. 54, p. 187-195, 2000.

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

WHEELER, T.L.; KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S.D. **Standardized Warner-Bratzler Shear Force Procedures for Meat Tenderness Measurement**. Clay Center, NE.: Roman L. Hruska / USDA, 1995. Protocolo que descreve a metodologia da Força de Cisalhamento.