UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

PATRICIA GOLDSCHMIDT LINS

Campo magnético pulsado na preservação de carne bovina moída

Pirassununga
2011

PATRICIA GOLDSCHMIDT LINS

Campo magnético pulsado na preservação de carne bovina moída

Versão Corrigida

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 Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Mariza Pires de Melo

Pirassununga
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

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

L759c

Lins, Patricia Goldschmidt
Campo magnético pulsado na preservação de carne bovina moída / Patricia Goldschmidt Lins. -- Pirassununga, 2011.
84 f.
Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Ciências Básicas.
Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos.
Orientadora: Profa. Dra. Mariza Pires de Melo.

1. Tecnologias de conservação 2. Campo eletromagnético 3. Qualidade de carne 4. Estabilidade oxidativa 5. Micro-organismos 6. Mioglobina 7. Preservação de alimentos. I. Título.

Aos meus queridos pais Mauricio e Cristina,
que com todo amor sempre investiram na minha educação
e me proporcionaram a realização de mais esta etapa;

À querida Professora Mariza,
que me incentivou a ingressar no mestrado
e me deu a honra de mais uma vez ser sua orientada;

Ao meu querido marido Guilherme,
que esteve presente durante toda a realização deste trabalho
com seu amor, paciência, compreensão e apoio incondicionais.

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Mariza Pires de Melo, por ter contribuído, mais uma vez, para minha formação acadêmica, de maneira tão competente, pelo conhecimento transmitido, por sua dedicação na elaboração desta dissertação e, acima de tudo, pela confiança, amizade e conselhos, que sou muito grata por tê-los recebido e seguido;

À Pós Graduação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pela oportunidade de ter sido novamente aluna desta conceituada faculdade e aos professores da pós graduação pelos conhecimentos transmitidos;

À FAPESP e ao CNPq pelo auxílio financeiro na realização deste trabalho;

À empresa VPJ Beef pela doação dos cortes cárneos utilizados nos experimentos;

Ao Prof. Dr. Ernane Xavier da Costa por fazer parte da idealização deste trabalho, pelo fornecimento do equipamento utilizado e pela constante colaboração e ensinamentos transmitidos;

Aos estagiários Taciana e Tomas, e à Alessandra e à Silvana, pela enorme colaboração e dedicação na condução dos experimentos;

Aos integrantes do Laboratório de Física Aplicada e Computacional (LAFAC), em especial ao Aldo, ao Gustavo e ao Vinicius, pelas contribuições ao longo do trabalho;

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Trindade e à Edneli Monterrey pelo empréstimo de equipamentos necessários para realização de parte das análises;

Ao pessoal do Laboratório de Química Biológica, Eliane, Alessandra, Luciane, Andreia, Pamela, Romy, Juliana, Márcia e Paulo pelo convívio e amizade e, em especial à Silvana, por toda sua competência e amizade;

À equipe da Biblioteca, em especial à Patricia Rosa pela colaboração na obtenção de artigos científicos e ao Girlei pelas orientações na elaboração da dissertação;

Aos colegas de pós graduação pela amizade e troca de experiências, em especial à Rafaela, pela ajuda inicial nas análises microbiológicas e ao Adalfredo pela ajuda com os resultados;

À minha amiga Daniela, por termos realizado mais esta etapa juntas;

Ao meu marido Guilherme, pela paciência, cumplicidade, dedicação e apoio, que tornaram a minha caminhada mais tranquila e mais feliz, pela compreensão em todos os momentos e por fazer parte da minha vida de forma tão especial;

À minha família e amigos, por todo apoio e incentivo dado e principalmente pela compreensão nos momentos de ausência, em especial meus pais Mauricio e Cristina, meus irmãos Daniel e Leandro, meus sogros Toninho e Vera e meus cunhados e cunhadas queridos;

À Deus, minha Fortaleza.

RESUMO

LINS, P.G. **Campo magnético pulsado na preservação de carne bovina moída.** 2011. 84 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a utilização de campo magnético pulsado (CMP) de baixa intensidade na preservação da qualidade microbiológica, cor e estabilidade oxidativa de carne bovina moída durante armazenamento aeróbio refrigerado. Amostras moídas de peixinho bovino (músculo *Supraspinatus*) foram expostas a CMP por 2 horas às frequências de 1, 30 ou 60 Hz ou, em outra etapa, expostas a CMP de 1 Hz de frequência por 2 horas ou continuamente por 12 dias. Amostras controle não foram expostas ao CMP. As amostras foram armazenadas a 4°C por até 12 dias, e avaliadas a cada seis dias por meio de análise microbiológica de contagem total de bactérias mesófilas aeróbias, e a cada dois dias por meio de análises físico-químicas e bioquímicas: pH, cor instrumental (escala CIELAB), mioglobina e oxidação lipídica. A exposição ao CMP de 1 Hz por 2 horas reduziu a contagem de mesófilos aeróbios com relação ao controle em 1,3 ciclos logarítmicos no 12° dia de armazenamento refrigerado. Os conteúdos de metamioglobina das amostras expostas por 2 horas ao CMP, independente da frequência de pulso, foram significativamente menores com relação ao controle no 6° dia de armazenamento refrigerado. Os demais parâmetros de qualidade não sofreram alteração significativa com relação ao controle durante o armazenamento e não foi verificado efeito das diferentes frequências de CMP. Conclui-se que campo magnético pulsado de baixa intensidade (ordem de mili Tesla) apresenta potencial para ser utilizado como tecnologia inovadora, em combinação com a refrigeração, na preservação de carnes frescas. Todavia, mais estudos são necessários para melhor entendimento dos mecanismos de ação de campo magnético, principalmente em alimentos.

Palavras-chave: tecnologias de conservação; campo eletromagnético; qualidade de carne; estabilidade oxidativa; micro-organismos; mioglobina; preservação de alimentos.

ABSTRACT

LINS, P.G. **Pulsed magnetic field in ground beef preservation.** 2011. 84 f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

This study aimed to evaluate the use of low intensity pulsed magnetic field (PMF) in the preservation of microbiological quality, color and oxidative stability of ground beef during aerobic refrigerated storage. Ground beef samples of chuck tender (*Supraspinatus* muscle) were exposed to PMF for 2 hours at frequencies of 1, 30 and 60 Hz or, in another step, they were exposed to a 1 Hz PMF for 2 hours or continuously for 12 days. Control samples were not exposed to PMF. Samples were stored at 4°C for up to 12 days, and evaluated every six days through microbiological analysis of total aerobic mesophilic bacteria count, and every two days through physicochemical and biochemical analysis of pH, instrumental color (CIELAB scale), myoglobin and lipid oxidation. Exposure to 1 Hz PMF for 2 hours reduced the growth of aerobic mesophiles in relation to the control by 1.3 logarithmic cycles in the 12th day of refrigerated storage. Metmyoglobin content of samples exposed to the PMF for 2 hours, regardless of the pulse frequency, were significantly lower compared to the control in the 6th day of refrigerated storage. The other quality parameters did not change significantly during storage compared to the control and it was not observed effect of different PMF frequencies. We concluded that low intensity pulsed magnetic field (order of mili Tesla) has the potential to be used as innovative technology, in combination with refrigeration, in fresh meat preservation. However, more studies are needed to better understand the mechanisms of action of magnetic field, mainly in foods.

Keywords: preservation technologies; electromagnetic fields; meat quality; oxidative stability; microorganisms; myoglobin; food preservation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – (a) Estrutura química do grupo heme com átomo central de ferro e (b) esquema estrutural da molécula de mioglobina na forma oximioglobina, com o grupo heme ligado à globina 20

Figura 2 - Esquema simplificado de reações e transformações da mioglobina em carnes frescas 20

Figura 3 - Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica 22

Figura 4 – Reações de Fenton e Haber-Weiss 23

Figura 5 – Esquema resumido da possível interação entre as reações de oxidação da mioglobina e dos ácidos graxos insaturados nas bicamadas lipídicas 24

Figura 6 – Localização ilustrativa do corte peixinho (*Supraspinatus*) em carcaça bovina 36

Figura 7 – Amostras de carne moída dispostas em bandejas plásticas e cobertas com filme de PVC para início dos experimentos 37

Figura 8 – Equipamento *Magneto-freezer* utilizado para tratamento das amostras com campo magnético pulsado. (a) Equipamento fechado; (b) Equipamento aberto 38

Figura 9 – (a) Desenho esquemático da bobina tipo solenóide; (b) Estrutura no interior do *magneto-freezer*, onde a bobina está instalada (dentro do compartimento de inox), e respectivo sistema de refrigeração 39

Figura 10 – Perfil do campo magnético pulsado a 1 Hz de frequência, gerado no interior das bobinas do *magneto-freezer*, medido com Sonda Hall 40

Figura 11 – Perfil do campo magnético pulsado com frequências de 10 Hz, gerado no interior das bobinas do *magneto-freezer* medido com Sonda Hall 40

Figura 12 – Amostra posicionada no interior da bobina para receber tratamento com campo magnético pulsado 41

Figura 13 – Desenho esquemático da distribuição das amostras nas bandejas a partir do músculo de peixinho bovino 48

Figura 14 – Fração relativa das formas de apresentação da mioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, durante período de armazenamento a 4°C. (a) Controle; (b) CMP-2h-1Hz; (c) CMP-2h-30Hz; (d) CMP-2h-60Hz 52

Figura 15 – Contagem padrão de micro-organismos mesófilos aeróbios das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante o armazenamento a 4°C..... 55

Figura 16 – Cor das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante período de armazenamento a 4°C. (a) Luminosidade (parâmetro L*); (b) Teor de vermelho (parâmetro a*); (c) Teor de amarelo (parâmetro b*) 62

Figura 17 – Fração relativa das formas de apresentação da mioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, durante período de armazenamento a 4°C. (a) Controle; (b) CMP-2h-1Hz; (c) CMP-12d-1Hz 65

Figura 18 – Fração de metamioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante período de armazenamento a 4°C. 66

Figura 19 – Correlação negativa entre o parâmetro a* de cor instrumental e fração de metamioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP 67

Figura 20 – Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante período de armazenamento a 4°C..... 69

Figura 21 – Correlação positiva entre valores de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e fração de metamioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP 70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos a que foram submetidas as amostras expostas a campos magnéticos pulsados em diferentes frequências 42

Tabela 2 - Descrição dos tratamentos a que foram submetidas as amostras, variando o tempo de exposição ao campo magnético pulsado a 1 Hz de frequência 43

Tabela 3 - Valores de pH das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP a diferentes frequências, durante o período de armazenamento a 4°C 50

Tabela 4 - Fração de metamioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP a diferentes frequências, no 6° dia de armazenamento a 4°C 53

Tabela 5 - Valores de pH das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante o período de armazenamento a 4°C 59

Tabela 6 - Cor das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante o período de armazenamento a 4°C 61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
ATP	Adenosina trifosfato
CMP	Campo magnético pulsado
DFD	Escura, dura e seca (*Dark, firm, dry*)
DNA	Ácido desoxiribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FZEA	Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
HNE	4-hidroxinonenal
HRP	Peroxidase de raiz forte
LAFAC	Laboratório de Física Aplicada e Computacional
MDA	Malondialdeído
PCA	Ágar Padrão para Contagem
PVC	Policloreto de vinila
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TEP	1,1,3,3 Tetraetoxipropano
UFC	Unidades formadoras de colônia
USP	Universidade de São Paulo
ZAB	Departamento de Ciências Básicas

LISTA DE SÍMBOLOS

Hz	Hertz
^{o}C	graus Celsius
T	Tesla
mT	mili Tesla
Fe^{2+}	íon ferroso
Fe^{3+}	íon férrico
O_2	oxigênio
H_2O	água
$HO^{\bullet}$	radical hidroxil
$O_2^{-\bullet}$	ânion superóxido
H_2O_2	peróxido de hidrogênio
CO_2	dióxido de carbono
N_2	nitrogênio
CO	monóxido de carbono
MPa	mega Pascal
γ	gama
kGy	kilo Gray
kHz	kilo Hertz
kg	kilograma
cm	centímetro
m	metro
ms	mili segundo
g	grama
rpm	rotações por minuto
mL	mililitro

mm	milímetro
L*	luminosidade
a*	teor de vermelho
b*	teor de amarelo
Na^+	íon sódio
K^+	íon fosfato
mol/L	mol por litro
µm	micrômetro
nm	nanômetro
DeMb	desoximioglobina
MbO_2	oximioglobina
MetMb	metamioglobina
µg/mL	micrograma por mililitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14

2 REVISÃO DE LITERATURA 15

2.1 Qualidade da carne bovina fresca 15

2.1.1 Microbiologia 17

2.1.2 pH 18

2.1.3 Cor 19

2.1.4 Oxidação lipídica 21

2.2 Tecnologias de preservação de carne bovina fresca 25

2.2.1 Embalagens com atmosfera modificada 26

2.2.2 Alta pressão hidrostática 27

2.2.3 Radiação ionizante 28

2.3 Ação de campo magnético em alimentos 30

3 OBJETIVOS 35

3.1 Objetivo geral 35

3.2 Objetivos específicos 35

4 METODOLOGIA 36

4.1 Obtenção e preparo das amostras 36

4.2 Campo magnético pulsado (CMP) 38

4.3 Exposição ao CMP 41

4.3.1 Efeito da exposição ao CMP a diferentes frequências de pulso 42

4.3.2 Efeito do tempo de exposição ao CMP a 1 Hz de frequência 42

4.4 Análises microbiológicas 43

4.5 Análises físico-químicas e bioquímicas 44

4.5.1 pH 44

4.5.2 Cor instrumental 44

4.5.3 Mioglobina 45

4.5.4 Oxidação lipídica 46

4.6 Desenho experimental 47

4.7 Análise estatística 48

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 49

5.1 Efeito da exposição ao CMP a diferentes frequências de pulso 49

5.1.1 pH 49

5.1.2 Mioglobina 51

5.2 Efeito do tempo de exposição ao CMP a 1 Hz de frequência 53

5.2.1 Análises microbiológicas 54

5.2.2 Análises físico-químicas e bioquímicas 59

5.2.2.1 pH 59

5.2.2.2 Cor instrumental 60

5.2.2.3 Mioglobina 64

5.2.2.4 Oxidação lipídica 68

6 CONCLUSÕES 72

REFERÊNCIAS 73

1 INTRODUÇÃO

A importância da carne bovina na alimentação humana e, principalmente na economia mundial torna este um dos principais segmentos do agronegócio. Especificamente no Brasil, principal exportador de carne bovina do mundo, a importância econômica do setor faz com que receba especial atenção quanto a sua produtividade, desenvolvimento e qualidade em toda a cadeia produtiva até o consumidor final.

A exigência dos consumidores tem aumentado e há uma demanda por produtos mais naturais, seguros e de alta qualidade, porém sem alterações sensoriais. Desta forma, a conservação de alimentos perecíveis é um tema bastante desafiador, pois consiste não apenas na garantia da segurança do alimento, mas também na manutenção de sua qualidade sensorial. Neste contexto encontra-se a carne bovina fresca, que devido as suas características de composição e nutrientes, bem como sua origem e forma de obtenção, é bastante favorável à contaminação e multiplicação microbiológica e a alterações de cor, sabor e odor. No entanto, a carne, quando moída, possui ainda mais susceptibilidade à contaminação microbiana e às alterações sensoriais, com vida de prateleira limitada, devido às características específicas do processo de moagem, porém é apreciada pela sua praticidade e baixo custo em geral.

A demanda atual por produtos de maior qualidade tem levado ao estudo e desenvolvimento de tecnologias mais brandas de conservação de alimentos. Neste sentido, a utilização de campos magnéticos em alimentos parece ser uma alternativa em potencial, uma vez que campos magnéticos vêm sendo estudados há alguns anos principalmente na inativação *in vitro* de micro-organismos e em sistemas biológicos, tais como atividade enzimática e reações bioquímicas em geral.

Frente aos resultados satisfatórios até então obtidos com campo magnético, o presente trabalho possui uma proposta inovadora de utilização de campo magnético pulsado de baixa intensidade e baixa frequência de pulso para aplicação como tecnologia de conservação de alimentos, mais especificamente carne bovina fresca moída.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Qualidade da carne bovina fresca

A carne possui composição e estrutura complexas e variadas, uma vez que, conforme definido por Lawrie (2005), é o resultado *post mortem* de um tecido biológico complexo, o músculo, e que reflete, posteriormente, características especiais que a função de contração requer. Desta forma, possui grande diversidade de fatores relacionados à sua qualidade.

Em termos gerais, a composição da carne é de aproximadamente 75% de água, 19% de proteína, 3,5% de substâncias não protéicas solúveis, e 2,5% de gordura (LAWRIE, 2005), porém a compreensão da natureza e comportamento da carne, bem como sua variabilidade e qualidade não pode ser embasada apenas em definições simplificadas de composição. Assim como qualquer produto de origem animal, a qualidade da carne depende de características intrínsecas do animal, tais como genética, raça, sexo e idade (FELÍCIO, 1997; WARNER et al., 2010; WARREN et al., 2008), além das condições de criação, alimentação e saúde (RESCONI et al., 2010; WARREN et al., 2008).

Devido a sua origem e composição, a carne é susceptível a diferentes transformações e reações que alteram suas características de qualidade. A grande diversidade de nutrientes unida à alta umidade favorece a proliferação de micro-organismos nas carnes. As diferentes reações bioquímicas relacionadas às proteínas, lipídios, enzimas e outros nutrientes podem provocar alterações de cor, odor, textura e aroma.

A carne *in natura* ou fresca é aquela que, após abate e desossa do animal, não foi submetida a qualquer processamento industrial, a não ser os de sua obtenção e/ou manutenção, tais como corte, moagem e resfriamento (ABERLE et al., 2001; PARDI et al., 2001). Sua comercialização ocorre, principalmente, direto ao consumidor final, nos supermercados e açougues, ou ao setor de *Food Service*. Desta forma, além da qualidade microbiológica da carne fresca, a qualidade sensorial, através de características como cor, maciez e aroma, possui relevante importância, uma vez que estão diretamente relacionados com a aceitação pelo consumidor.

Feijó (1999) classifica os atributos de qualidade da carne, do ponto de vista do consumidor, em atributos visuais, gustativos, nutricionais e de segurança. Desta forma, carne de boa qualidade é aquela que atrai o consumidor pela aparência, é saborosa quando consumida, tem alto valor nutricional, é livre de micro-organismos patogênicos e resíduos químicos e apresenta baixa contagem de micro-organismos deterioradores.

No caso da carne vermelha *in natura*, para manutenção da qualidade desejável durante sua estocagem, Esmer et al. (2011) consideram como primordial o controle relacionado à cor, oxidação lipídica e microbiologia, de forma a reduzir a perda da coloração vermelha, o desenvolvimento de odores indesejáveis, a contaminação microbiana e alterações de pH. Além disto, diversos fatores relacionados entre si têm influência na manutenção destas características de qualidade da carne fresca e sua vida de prateleira, tais como temperatura de conservação, oxigênio atmosférico, enzimas endógenas, umidade, luz e principalmente presença de micro-organismos (ZHOU; XU; LIU, 2010).

A carne fresca moída é normalmente comercializada no Brasil em balcões de auto-atendimento nos supermercados, refrigerada em bandejas de isopor envoltas por filme plástico de PVC (policloreto de vinila). Carne moída é definida pela legislação brasileira como "[...] o produto cárneo obtido a partir da moagem de massas musculares de carcaças de bovinos, seguido de imediato resfriamento ou congelamento" (BRASIL, 2003b, p.29). Por ter passado pelo processo de moagem, a carne moída sofre alterações em sua estrutura, com aumento de superfície de exposição à atmosfera ao seu redor e incorporação de oxigênio. Além disto, os micro-organismos normalmente presentes na superfície da carne são distribuídos por toda a carne moída (RAO; RAMESH, 1988), possuindo, portanto, maior susceptibilidade a alterações físico-químicas e bioquímicas e, à contaminação microbiológica devido ao manuseio durante a moagem (MARCHI, 2006; SKRÖKKI, 1997). Desta forma, o controle da multiplicação microbiana, a manutenção da cor vermelha e controle da oxidação lipídica durante o armazenamento são de relevante importância.

2.1.1 Microbiologia

A carne possui naturalmente uma microbiota proveniente do animal, que normalmente é transferida à carne no processo de abate e desossa da carcaça. Além disto, na ausência de boas práticas sanitárias, pode haver contaminação da carne pelos manipuladores, equipamentos, utensílios e ambiente, durante o abate, desossa, processamento, transporte e posterior estocagem da carne (ANTIC et al., 2010; BARROS et al., 2007; PORTO, 2006).

Os micro-organismos em carnes podem ser deteriorantes, cuja presença na carne fresca é inevitável, controlando-se desta forma a sua quantidade; ou patogênicos, cuja ocorrência tenta-se evitar através de inspeção sanitária *ante* e *post mortem*. Uma contaminação microbiológica por micro-organismos patogênicos pode causar danos à saúde do consumidor (LEE et al., 2009; LIN; JENSEN; YEN, 2005), e uma alta contagem de micro-organismos deteriorantes pode causar alterações sensoriais indesejáveis, tais como formação de limo, odor característico, alteração de cor e alterações de pH (ABERLE et al., 2001). Por isto o controle da multiplicação microbiana é o principal fator no que diz respeito à qualidade da carne *in natura* durante seu armazenamento, conforme revisado por Lambert, Smith e Dodds (1991).

As bactérias deteriorantes Gram-negativas dos gêneros *Pseudomonas, Moraxella, Psychrobacter* e *Acinetobacter* são as predominantes em carne *in natura* refrigerada em embalagem aeróbia (ABERLE et al., 2001; BORCH; KANT-MUERMANS; BLIXT, 1996). À medida que as condições de atmosfera da embalagem e temperatura de conservação são alteradas, outros micro-organismos passam a predominar, de acordo com as características individuais de cada gênero e espécie. Dentre os patogênicos, destacam-se *Clostridium perfringens, Staphylococcus aureus, Salmonella* spp., *Escherichia coli, Campylobacter* spp., *Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes* e *Aeromonas* spp., conforme revisado por Borch e Arinder (2002).

A composição da carne é altamente favorável ao desenvolvimento de micro-organismos, principalmente devido à sua alta atividade de água (>0,98), pH moderado (5,5-6,5) e fontes de energia, carbono e outros nutrientes prontamente disponíveis (VARNAM; SUTHERLAND, 1995). Além disto, fatores extrínsecos também têm influência na multiplicação microbiana (ROBAZZA; TELEKEN; GOMES, 2010), como a composição da

atmosfera ao redor do produto (ESMER et al., 2011) e principalmente a temperatura de armazenamento (MCDONALD; SUN, 1999).

A flora microbiana em carnes frescas refrigeradas, em geral, é composta de micro-organismos mesófilos e psicrotróficos (HEREDIA et al., 2001; TOMPKIN; MCNAMARA; ACUFF, 2001). De acordo com Cousin, Jay e Vasavada (2001), os psicrotróficos são micro-organismos que se multiplicam em temperaturas de refrigeração (0 a 7°C), mas possuem temperatura ótima de multiplicação em faixa mesófila (acima de 20°C), sendo considerados, portanto, um subgrupo dos micro-organismos mesófilos.

Em geral, carnes frescas moídas tendem a ter uma maior contagem de micro-organismos do que cortes cárneos, por exemplo. De acordo com Jay (2005) isto se deve principalmente ao maior manuseio durante o processo, bem como aos utensílios utilizados durante a moagem aumentando a susceptibilidade à contaminação. Além disto, a carne moída possui maior superfície de contato, o que favorece a proliferação de bactérias aeróbias (MARCHI, 2006).

2.1.2 pH

Após a morte do animal a reserva de glicogênio no músculo é metabolizada com formação de ácido lático e consequente redução no valor do pH, fator muito importante no processo de conversão do músculo em carne (IMMONEM et al., 2000). Esta redução no valor do pH ocorre gradativamente durante a refrigeração da carcaça, de forma que o pH de aproximadamente 7,0 reduz a um pH final entre 5,5 e 5,6. A taxa de redução do pH e o pH final atingido influenciam diretamente as características de qualidade da carne (FEIJÓ, 1999).

De acordo com Felício (1997) alguns fatores de estresse em bovinos como transporte, jejum prolongado (CARVALHO FILHO et al., 2005) e condições climáticas severas podem resultar em um *rigor mortis* atípico, no qual a reserva de glicogênio do animal no momento do abate não é suficiente para abaixar o pH para 5,5 em 24 horas *post mortem*. Carnes provenientes de carcaças de animais estressados apresentam valores altos de pH final (>5,9), e normalmente são escuras, duras e secas, conhecidas como DFD (*dark, firm, dry*) (NOTTINGHAM, 1982). De acordo com Immonem et al. (2000), as carnes DFD são também

caracterizadas por uma vida de prateleira reduzida, cor escura indesejável e fraco odor e sabor de carne.

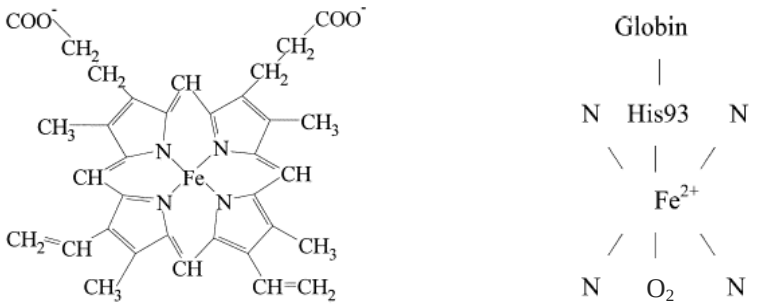
No caso de carnes frescas que não são DFD, valores de pH, em geral, não são utilizados como indicativo único de qualidade, uma vez que nem sempre refletem uma qualidade microbiológica insatisfatória, pois dependendo do tipo de micro-organismo presente, mesmo carnes deterioradas podem continuar apresentando valores de pH dentro da faixa de normalidade (SKRÖKKI, 1997).

2.1.3 Cor

A cor é o principal atributo visual avaliado pelo consumidor no momento da compra de carne fresca (FEIJÓ, 1999), e por isto é bastante estudada e levada em consideração quando da aplicação de tecnologias de acondicionamento e conservação de carne *in natura*.

De acordo com Pardi et al. (2001), em uma situação de sangria bem realizada, a cor da carne é devida principalmente à mioglobina, pigmento dos músculos, sendo de 80 a 90% do pigmento total, e em menor grau à hemoglobina, pigmento do sangue. O teor de hemoglobina só influenciará a cor da carne se o processo de sangria for mal executado (FEIJÓ, 1999). A quantidade de mioglobina em carnes *in natura* e, portanto, sua cor, variam em função do tipo de músculo, da espécie e idade do animal, entre outros (ABERLE et al., 2001; HUNT; HEDRICK, 1977; PEREIRA, 2002).

A molécula de mioglobina compreende uma fração protéica, do tipo globulina, e um núcleo de hematina (grupo heme), que contém um átomo central de ferro em sua estrutura (Figura 1) (LAWRIE, 2005). A função biológica da mioglobina consiste no armazenamento de oxigênio para utilização pelos tecidos vivos, que ocorre quando ela se encontra em seu estado reduzido (oximioglobina), porém, em função de determinadas condições do ambiente, a mioglobina sofre alterações em sua estrutura, relacionadas ao estado de oxigenação e oxidação do átomo de ferro. Estas alterações refletem diretamente na coloração da carne fresca.



(a) (b)

Figura 1 – (a) Estrutura química do grupo heme com átomo central de ferro e (b) esquema estrutural da molécula de mioglobina na forma oximioglobina, com o grupo heme ligado à globina.
(a) Fonte: Chen, Stevens e Kang (1999); (b) Adaptado de Brewer (2004)

Conforme representado na Figura 2, na presença de oxigênio o íon ferroso (Fe^{2+}) do grupo heme, liga-se ao oxigênio atmosférico (oxigenação), formando a oximioglobina, que possui coloração vermelho-brilhante, desejável e atraente do ponto de vista do consumidor. Quando na ausência de oxigênio, a mioglobina passa a desoximioglobina, que possui coloração arroxeada. A oxidação do íon ferroso (Fe^{2+}) à forma férrica (Fe^{3+}) e sua ligação com uma molécula de água, que ocorre naturalmente durante armazenamento da carne fresca na presença de oxigênio, resulta na formação da metamioglobina, que possui coloração amarronzada, indesejável do ponto de vista do consumidor (MANCINI; HUNT, 2005). Desta forma, durante a comercialização da carne fresca, a preservação da cor vermelho-brilhante atraente envolve principalmente a prevenção ou o retardamento da formação de metamioglobina (ROSA, 2009).

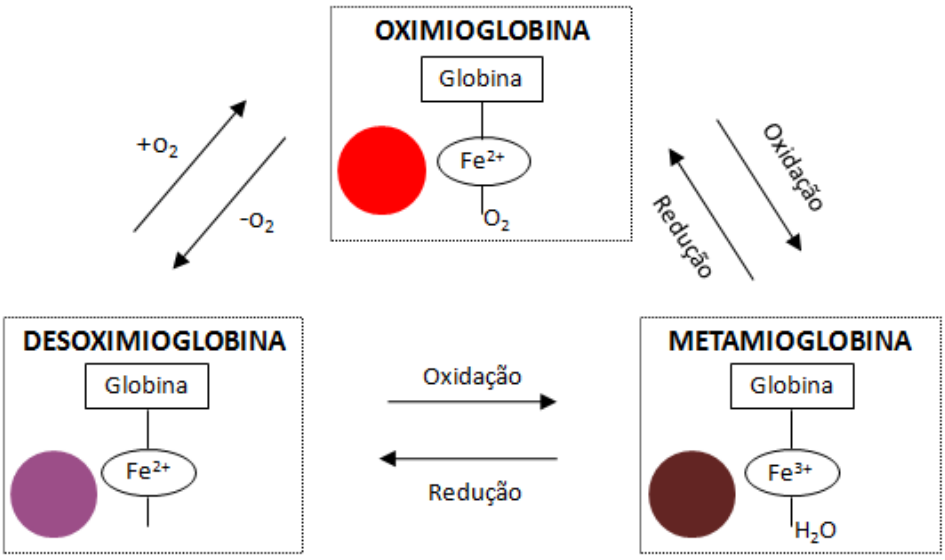


Figura 2 – Esquema simplificado de reações e transformações da mioglobina em carnes frescas.
Adaptado de Feijó (1999)

Conforme revisado por Mancini e Hunt (2005), a cor da carne é um tópico complexo que abrange genética animal, condições *ante* e *post-mortem*, química fundamental do músculo, e diversos fatores relacionados com processamento da carne, embalagem, distribuição, armazenamento, apresentação no comércio e preparação final para consumo.

Alguns fatores tais como temperatura, tempo de estocagem e quantidade de oxigênio, têm influência no processo de oxigenação e oxidação da mioglobina. Jeremiah e Gibson (2001) observaram que quanto menor a temperatura de estocagem, menor a taxa de descoloração da carne fresca. De acordo com Jakobsen e Bertelsen (2000) um conteúdo de oxigênio na embalagem entre 55 e 80% mantém uma estabilidade de cor desejável devido à oxigenação da mioglobina, com formação de oximioglobina.

A conversão de oximioglobina a metamioglobina é favorecida mediante ambiente oxidante, ou seja, na presença de moléculas que possam receber elétrons, como o oxigênio e suas espécies reativas, dentre elas o radical hidroxil ($HO^{\bullet}$). Em carnes moídas a formação de metamioglobina, de coloração amarronzada, é facilitada devido à maior área de exposição e, principalmente ao tipo de embalagem, com presença de oxigênio atmosférico, tradicionalmente utilizada em sua comercialização e armazenamento (VENTURINI; CONTRERAS-CASTILLO; FARIA, 2009).

2.1.4 Oxidação lipídica

Os ácidos graxos insaturados presentes na composição da carne podem sofrer oxidação durante o armazenamento da carne fresca, inclusive os que compõem os fosfolipídios de membranas. Este processo de oxidação lipídica caracteriza-se por uma série de reações em cadeia, constituída de três fases principais, iniciação, propagação e terminação, de acordo com esquema apresentado na Figura 3. Conforme Ferrari (1998), as reações de iniciação da oxidação lipídica em alimentos podem ser promovidas pelo impacto ou absorção de energia ou por reações de óxido-redução. O impacto ou absorção de energia pode ocorrer no caso de exposição a radiações ultravioleta ou ionizante, luz visível e degradação térmica do material, já as reações de óxido-redução podem ser iniciadas por espécies reativas de oxigênio

e catalisadas por metais de transição, como o ferro, ou por enzimas oxidantes, como oxidases e lipoxigenases.

Os radicais lipídicos formados no processo de iniciação são prontamente susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico e desta forma convertidos em outros radicais, formando os produtos primários da oxidação (peróxidos e hidroperóxidos), que são instáveis e atuam como propagadores da reação. Na fase de terminação, dois radicais combinam-se, ocorrendo a cisão e/ou rearranjo dos mesmos para formação dos produtos secundários, ou finais, da oxidação (compostos voláteis e não voláteis estáveis) (RAMALHO; JORGE, 2006).

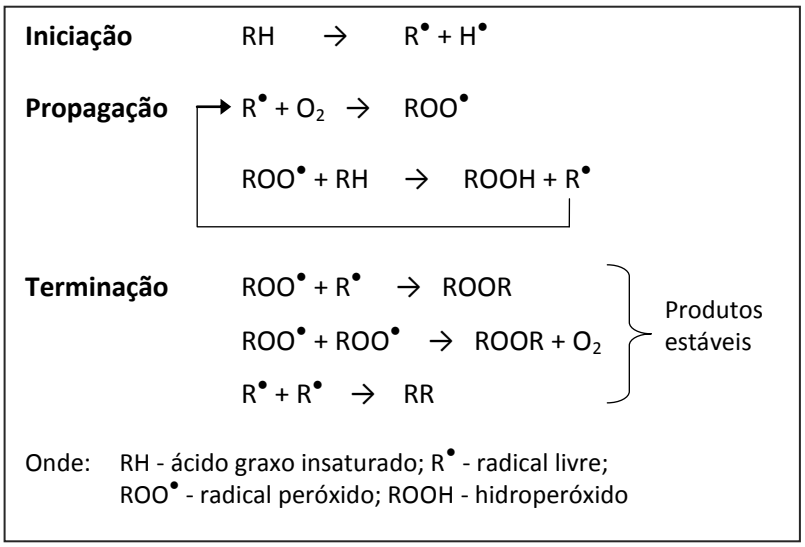


Figura 3 – Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica.
Fonte: Ramalho e Jorge (2006)

Entre os fatores que afetam a ocorrência da oxidação lipídica em carnes encontram-se a luz, temperatura, concentração de oxigênio, presença de espécies reativas de oxigênio, presença de anti e pró-oxidantes, grau de insaturação dos ácidos graxos, presença de enzimas oxidantes (exemplos: oxidases e lipoxigenases) e enzimas antioxidantes (exemplo: fosfolipases) (FERRARI, 1998; JAKOBSEN; BERTELSEN, 2000; KIM et al., 2010).

Dentre as espécies reativas de oxigênio, o radical hidroxil é considerado o mais reativo devido ao seu alto poder oxidante (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). A formação deste radical é favorecida na presença de ferro, como mostra a Figura 4, que representa as reações de Fenton e Haber-Weiss.

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^- + HO^{\bullet} \quad \textit{(Fenton)}$$

$$Fe^{3+} + O_2^{-\bullet} \rightarrow Fe^{2+} + O_2 \quad \textit{(Haber-Weiss)}$$

$$O_2^{-\bullet} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + HO^- + HO^{\bullet}$$

Onde: H_2O_2 peróxido de hidrogênio; OH^- hidroxila; $OH^{\bullet}$ radical hidroxil; $O_2^{-\bullet}$ ânion superóxido; Fe^{2+} íon ferroso; Fe^{3+} íon férrico

Figura 4 – Reações de Fenton e Haber-Weiss.
Fonte: Halliwell e Gutteridge (2007).

O ânion superóxido ($O_2^{-\bullet}$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) são formados por várias vias metabólicas, mas principalmente pelo metabolismo aeróbio celular. Quando o O_2 recebe um elétron, forma o $O_2^{-\bullet}$ e este, por sua vez, forma o H_2O_2 espontaneamente ou em uma reação catalisada por enzima. A formação de $O_2^{-\bullet}$ e H_2O_2 pode ser acelerada em condições de estresse (SORDILLO; AITKEN, 2009), como por exemplo o estresse de abate dos animais. Neste contexto, o músculo bovino consiste em um ambiente naturalmente oxidante, rico em espécies reativas de oxigênio e ainda com ferro em sua composição, importante catalisador da geração de $HO^{\bullet}$, possuindo desta forma, condições favoráveis para a iniciação dos processos oxidativos.

A oxidação dos lipídios provoca alterações sensoriais indesejáveis nos alimentos, provocando *off-flavor* e odor de ranço (CAMPO et al., 2006; LADIKOS; LOUGOVOIS, 1990). Uma vez que se trata de reações em cadeia, diferentes produtos são formados durante o processo de oxidação, porém os responsáveis pelas alterações sensoriais são os produtos finais, tais como aldeídos e cetonas. Exemplos conhecidos de produtos finais formados em carnes incluem hexanal, propanal, 4-hidroxinonenal (HNE) e malondialdeído (MDA), também denominado malonaldeído (BREWER, 2009; CALKINS; HODGEN, 2007).

A oxidação lipídica pode ser pronunciada diante de propriedades intrínsecas da carne, como por exemplo, músculos com maior proporção de fibras vermelhas são mais susceptíveis que os músculos com predominância de fibras brancas (RHEE et al., 1988; WOOD et al., 2004), pois contém mais ferro e fosfolipídios em sua composição, de acordo com Wood et al. (2003).

Etapas de processamento ou tipos de embalagem também podem predispor a carne à oxidação lipídica. Uma vez que o oxigênio (O_2) e suas espécies reativas são promotores da

oxidação, carnes moídas são mais susceptíveis à oxidação lipídica do que cortes inteiros devido ao rompimento da estrutura celular do músculo e consequente exposição dos componentes lipídicos ao oxigênio (ESMER et al., 2011), à mistura dos componentes reativos e aumento da área de superfície devido à redução no tamanho das partículas (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996). Além disto, a oxidação lipídica é mais pronunciada em carnes armazenadas em embalagem aeróbia ou em atmosfera modificada com alto teor de oxigênio (ESMER et al., 2011; ZAKRYS et al., 2008).

Estudos relacionam a oxidação lipídica com a oxidação da mioglobina em carnes, afirmando existir uma interação entre estes dois processos. Conforme revisado por Faustman et al. (2010) os estudos indicam que a oxidação de um leva à formação de espécies químicas que podem acelerar a oxidação do outro, conforme esquema apresentado na Figura 5.

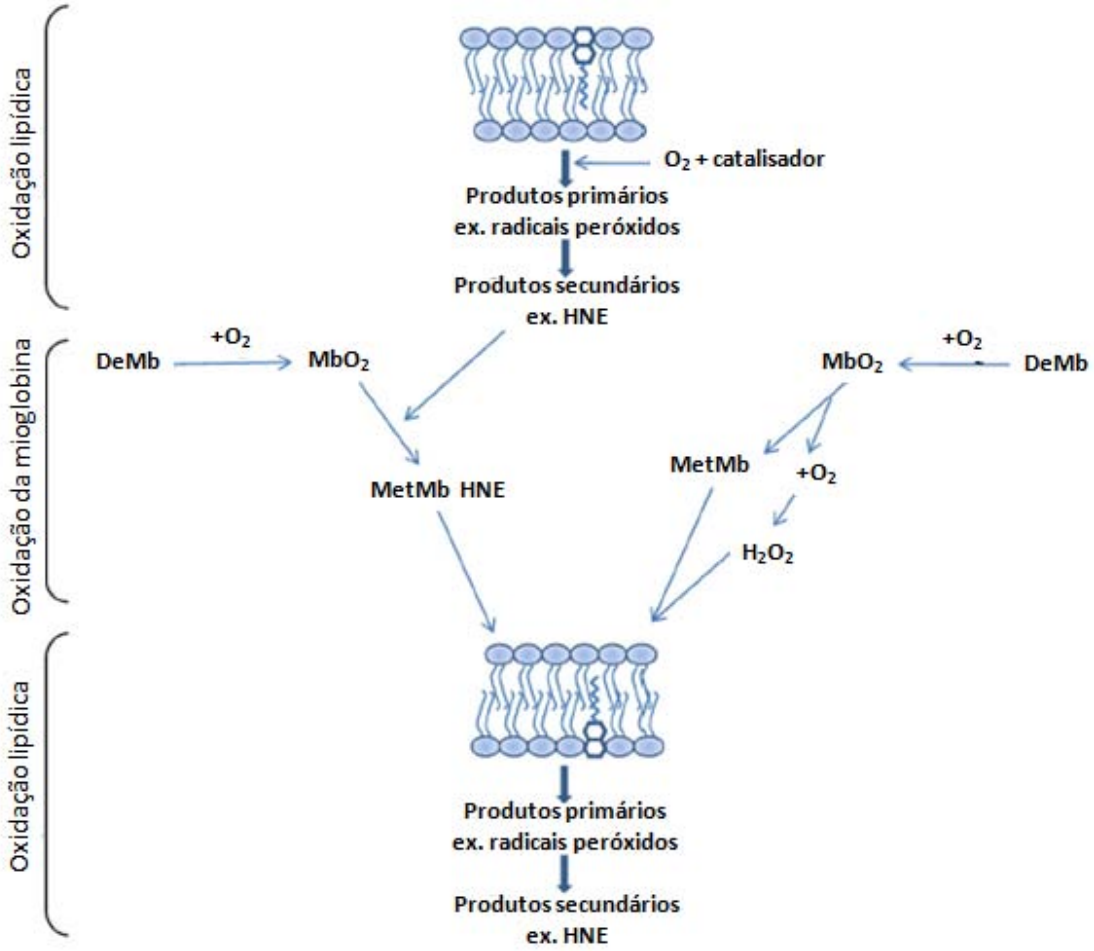


Figura 5 – Esquema resumido da possível interação entre as reações de oxidação da mioglobina e dos ácidos graxos insaturados nas bicamadas lipídicas. DeMb: desoximioglobina; MbO_2: oximioglobina; MetMb: metamioglobina; HNE: 4-hidroxinonenal.
Adaptado de Faustman et al. (2010)

2.2 Tecnologias de preservação de carne bovina fresca

Diante da variedade de alterações que podem ocorrer na carne fresca, e, consequentemente, afetar sua qualidade e vida de prateleira, diferentes tecnologias de conservação têm sido utilizadas e novas tecnologias propostas (AYMERICH; PICOUET; MONFORT, 2008). Em geral estas tecnologias atuam no controle dos principais fatores de influência, tais como temperatura, umidade, oxigênio atmosférico ou diretamente por processos inibitórios de micro-organismos (LAWRIE, 2005; ZHOU; XU; LIU, 2010).

A conservação de alimentos através do controle da temperatura vem sendo utilizado há milhares de anos (LAWRIE, 2005), e por isto, a refrigeração ou o congelamento são tradicionalmente utilizados para conservação de carne *in natura* (PARDI et al., 2001), sendo de importância e uso generalizados. As demais tecnologias, em geral, são utilizadas unidas ao emprego do frio, como tecnologias auxiliares.

O uso de baixas temperaturas está relacionado diretamente à inibição ou retardamento da multiplicação microbiana, uma vez que as reações metabólicas dos micro-organismos são catalisadas por enzimas, cuja taxa de reação reduz com a redução da temperatura (JAY, 2005). Além disto, baixas temperaturas atuam também na redução de reações que causam deterioração organoléptica, como oxidação de lipídios e alterações de coloração da carne, aumentando sua vida de prateleira (LIMBO et al., 2010).

A taxa de resfriamento e o método utilizado são fatores importantes na manutenção da qualidade da carne, uma vez que, se não corretamente dimensionados e controlados, podem provocar alterações indesejáveis, tais como queima pelo frio, perda de peso e encurtamento pelo frio (OFFER, 1991; PARDI et al., 2001).

Zhou, Xu e Liu (2010), ao revisar as tecnologias de preservação de carnes frescas, afirmam que os processos utilizados na preservação de carne *in natura* estão principalmente interessados na inibição da contaminação microbiológica, embora alguns métodos de conservação têm procurado minimizar outras alterações deteriorativas como as oxidativas e de coloração da carne. De acordo com os autores, as novas tecnologias mais pesquisadas de preservação de carnes frescas são tecnologias não térmicas de inativação, tais como embalagens com atmosfera modificada, processamento com alta pressão hidrostática e tratamento com radiação ionizante. Estas tecnologias, geralmente utilizadas combinadas com a refrigeração ou o congelamento, possuem grande potencial, pois procuram ser brandas,

possuir baixo consumo de energia, ser ambientalmente favorável e garantir aparência natural enquanto eliminam micro-organismos patogênicos e deteriorantes, proporcionando maior vida de prateleira.

2.2.1 Embalagens com atmosfera modificada

Embalagens com atmosfera modificada consistem na remoção ou alteração da composição normal do ar atmosférico, no interior da embalagem, por uma mistura gasosa adequada de forma a obter um maior tempo de vida útil do alimento, durante seu armazenamento refrigerado. Em carnes vermelhas frescas, os principais motivos da utilização de atmosfera modificada são a inibição microbiana para extensão da vida de prateleira e a manutenção da atrativa cor vermelha (VENTURINI; CONTRERAS-CASTILLO; FARIA, 2009). McMillin (2008) realizou uma revisão detalhada sobre a situação da atmosfera modificada em carnes e seus potenciais futuros.

A alteração da atmosfera com formação de vácuo em embalagens de carne *in natura* é amplamente utilizada, uma vez que prolonga a vida de prateleira da carne, evitando a multiplicação de micro-organismos aeróbios (BABJI; MURTHY, 2000; SØRHEIM; NISSEN; NESBAKKEN, 1999) e a oxidação lipídica (KIM et al., 2010). Porém, a cor da carne torna-se arroxeada pela formação de desoximioglobina (CARPENTER; CORNFORTH; WHITTIER, 2001), devido à ausência de oxigênio e impossibilidade de formação da oximioglobina, o que interfere na aceitabilidade pelo consumidor.

Desta forma, em geral, os estudos com atmosfera modificada em carnes frescas utilizam combinações dos gases oxigênio, dióxido de carbono (CO_2) e nitrogênio (N_2) (ESMER et al., 2011; SKANDAMIS; NYCHAS, 2002), embora alguns utilizem também baixas concentrações de monóxido de carbono (CO) (SØRHEIM; NISSEN; NESBAKKEN, 1999).

De acordo com Sørheim, Nissen e Nesbakken (1999), o CO_2 atua na inibição da multiplicação microbiana, o O_2 atua na manutenção da cor da carne, o N_2 atua no enchimento da embalagem e o CO auxilia na estabilidade da cor.

Estudos nesta área, em geral, são realizados com o objetivo de obter uma combinação de gases ideal para a conservação da carne, de forma a manter o máximo possível suas características de qualidade (ESMER et al., 2011; LUÑO; BELTRÁN; RONCALÉS, 1998; LUÑO et al., 2000).

2.2.2 Alta pressão hidrostática

O processamento com alta pressão hidrostática tem sido bastante estudado ultimamente na área de alimentos, pois se trata de tecnologia alternativa inovadora, não térmica, com efetiva inativação de micro-organismos e aumento de vida de prateleira (GARRIGA et al., 2004; JOFRÉ et al., 2009). Os efeitos e as potencialidades deste novo método em alimentos foram revisados por Balasubramaniam e Farkas (2008), e mais especificamente em carnes por Cheftel e Culioli (1997) e Hugas, Garriga e Monfort (2002).

O processamento consiste em uma câmara mecânica (cilindro de aço) contendo água, e bombas para gerar pressões de até 1.000 MPa (10.000 bar). O produto a ser processado é colocado em embalagem adequada, selado e depositado no cilindro. A pressão é gerada com uma bomba e pode ser aplicada contínua e uniformemente (isostática) ou de maneira oscilatória (JAY, 2005).

De acordo com Hugas, Garriga e Monfort (2002), a inativação dos micro-organismos ocorre devido a diversos danos acumulados no interior da célula. A permeabilidade da membrana celular é alterada devido à cristalização dos fosfolipídios, ocorrem modificações nas trocas iônicas, na composição de ácidos graxos, na morfologia celular, além de desnaturação de proteínas, inibição de atividade enzimática, desestabilização do complexo replicativo do DNA, formação de vacúolo, entre outros.

Apesar de sua eficiente ação contra micro-organismos, o processamento com alta pressão pode alterar algumas características de qualidade do alimento. No caso de carnes frescas, estudos mostram que pode ocorrer alteração na estrutura da carne (JUNG; DE LAMBALLERIE-ANTON; GHOUL, 2000), na cor (CARLEZ; VECIANA-NOGUES; CHEFTEL, 1995; CHEVALIER; LE BAIL; GHOUL, 2001) e nos níveis de oxidação lipídica

(CHEVALIER; LE BAIL; GHOUL, 2001; MA et al., 2007), mesmo sem alterações no perfil de aromas (SCHINDLER et al., 2010).

Os efeitos da alta pressão nos constituintes da carne ocorrem principalmente nas moléculas de água e lipídios, conforme revisado por Cheftel e Culioli (1997) e Hugas, Garriga e Monfort (2002). Do ponto de vista físico, as moléculas aproximam-se mais umas das outras, levando a transições de fase que são reversíveis após a despressurização. Do ponto de vista químico, as ligações covalentes não são quebradas, mas as ligações de menor energia como pontes de hidrogênio e ligações hidrofóbicas podem ser modificadas irreversivelmente.

A efetividade do processamento a alta pressão depende dos parâmetros de processo, tais como pressão aplicada (CHEVALIER; LE BAIL; GHOUL, 2001; JUNG; GHOUL; DE LAMBALLERIE-ANTON, 2003), temperatura e tempo de exposição (JUNG; GHOUL; DE LAMBALLERIE-ANTON, 2003), assim como fatores intrínsecos do alimento, como pH, tipo e quantidade de micro-organismos presentes. Em geral, a inativação de micro-organismos é mais efetiva com o aumento da pressão aplicada (HUGAS; GARRIGA; MONFORT, 2002).

Em pressões mais brandas os efeitos nos parâmetros de qualidade da carne e no seu conteúdo nutricional são minimizados (CHEAH; LEDWARD, 1997; MCARDLE et al., 2010). Outra forma de reduzir os efeitos indesejáveis é a combinação de outros tipos de tecnologia em conjunto com o processamento a alta pressão. Fernández et al. (2007) combinaram alta pressão com congelamento em carne fresca e obtiveram uma maior proteção da carne contra a deterioração de cor ocorrida no processo de alta pressão, recuperando a cor da carne fresca após o descongelamento.

2.2.3 Radiação ionizante

O processo de irradiação para preservação de alimentos consiste na exposição de um alimento a uma fonte radioativa de energia. O principal tipo de radiação utilizada são os raios gama (γ) gerados por isótopos radioativos como ^{60}Cobalto e ^{137}Césio, fontes de radiação ionizante (LAMBERT; SMITH; DODDS, 1991; LAWRIE, 2005). Os raios γ penetram no alimento, de forma a atuar não apenas na superfície, mas no alimento como um todo. São produzidos íons e moléculas quimicamente excitadas no produto exposto, que reagem

posteriormente, formando radicais livres, polímeros e, na presença de oxigênio, peróxidos (LAWRIE, 2005).

A radiação ionizante atua diretamente sobre os micro-organismos, reduzindo significativamente ou até mesmo eliminando a contaminação em alimentos, aumentando sua segurança e vida de prateleira (AL-BACHIR; MEHIO, 2001; BADR, 2004; CHEN et al., 2007; GAMAGE et al., 1997), sem notável aumento da temperatura do produto. A aplicação de irradiação nos alimentos, com efeito sobre bactérias patogênicas e deteriorantes é bastante documentada, e foi revisada por Farkas (1998). A situação da irradiação especificamente em carnes, bem como as perspectivas do setor foram avaliadas por Satin (2002).

As doses a serem utilizadas para conservação de alimentos dependem de vários fatores, tais como a natureza do alimento a ser irradiado, o tipo e quantidade de micro-organismos, a vida de prateleira esperada e as condições de armazenamento (refrigerado ou congelado) (BREWER, 2009; LAMBERT; SMITH; DODDS, 1991). Em carne vermelha fresca refrigerada, por exemplo, para redução de patógenos e extensão da vida de prateleira é permitido, nos Estados Unidos, um máximo de 4,5 kGy, enquanto que na carne congelada o máximo é de 7,0 kGy (DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1999).

Diante desta diversidade de fatores que influenciam na eficiência do processo de irradiação, os estudos apresentam diferentes doses de radiação com efeito em carnes. Badr (2004) observou menores contagens de micro-organismos patogênicos tais como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* e enterobacteriaceae, além de contagem total de mesófilos, psicrotróficos, bolores e leveduras em carnes irradiadas com 1,5 e 3 kGy. Conforme revisado por Lambert, Smith e Dodds (1991), muitos micro-organismos gram negativos deteriorantes em carnes são destruídos por uma dose de irradiação de 1 kGy, enquanto que a maioria das bactérias, com exceção dos esporos, necessitam de uma dose de 5 kGy.

Em contrapartida ao efeito desejável da irradiação na qualidade microbiológica em carnes, há um efeito indesejável nas características sensoriais, tais como cor, aroma, odor e aumento da oxidação lipídica (LACROIX et al., 2004), principalmente pela geração de $HO^{\bullet}$, em decorrência da radiólise da água. Estes efeitos dependem do tipo de carne, da intensidade da radiação, condições de temperatura, embalagem e atmosfera do produto, sendo mais pronunciados na presença de oxigênio e a altas temperaturas (BREWER, 2009; LAMBERT; SMITH; DODDS, 1991).

Conforme revisado por Brewer (2004), alterações na cor de carne fresca irradiada ocorrem devido à susceptibilidade da molécula de mioglobina, especialmente o ferro, em

alterar seu estado químico. Desta forma, dependendo da condição inicial da mioglobina (metamioglobina ou oximioglobina), potencial de óxido-redução do tecido, gás atmosférico, temperatura, pH, entre outros, a coloração da carne *in natura* é alterada ao passar pelo processo de irradiação.

Brewer (2009) revisou os efeitos da irradiação sobre o odor e aroma em carnes e atribuiu a formação dos compostos voláteis, responsáveis pelos odores indesejáveis, ao ataque das espécies reativas às moléculas de lipídios e proteínas. Estas reações induzem o início da oxidação destes macronutrientes, gerando produtos voláteis específicos.

Em geral, os efeitos indesejáveis associados à irradiação em carnes podem ser reduzidos pela utilização de embalagem com atmosfera modificada com redução ou eliminação de oxigênio, redução de temperatura antes da irradiação, e adição de antioxidantes (BREWER, 2004; BREWER, 2009; SOHN et al., 2009).

Apesar de bastante estudada e comprovada sua efetividade na melhoria de qualidade microbiológica em alimentos, a irradiação, em alguns países, como o Brasil (BEHRENS et al., 2009), sofre problemas de aceitação por parte do consumidor, que suspeita da segurança da tecnologia pois relaciona-a com radioatividade. Porém, sabe-se que a radiação ionizante não induz radioatividade nos alimentos (FELLOWS, 2006).

2.3 Ação de campo magnético em alimentos

É conhecido que campos magnéticos interagem com a matéria (REITZ; MILFORD; CHRISTY, 1982), conforme estabelecido por Maxwell (1873). Estudos verificaram efeitos de campos magnéticos especificamente sobre a matéria biológica, tais como em atividade enzimática (NUNES et al., 2008; PORTACCIO et al., 2005; SALAMINO et al., 2006; YOSHIHARA et al., 2009), na integridade de DNA (LAI; SINGH, 2004), no metabolismo celular (DAVIES et al., 1999) e principalmente no desenvolvimento de micro-organismos (FOJT et al., 2004; MAXWELL LABORATORIES INC, 1985; NOVÁK et al., 2007; TSUCHIYA et al., 1996; SILVEIRA et al., 2008).

O desenvolvimento de tecnologias alternativas não térmicas de conservação de alimentos tem sido um desafio para os pesquisadores (LADO; YOUSEF, 2002). Neste

contexto, e baseado no efeito dos campos magnéticos sobre os micro-organismos, sua utilização para conservação de alimentos parece ser uma alternativa em potencial (AHMED; RAMASWAMY, 2007; BARBOSA-CÁNOVAS; GÓNGORA-NIETO; SWANSON, 1998; DINÇER; BAYSAL, 2004). De acordo com Pothakamury, Barbosa-Cánovas e Swanson (1993) a utilização de campos magnéticos tem o potencial para pasteurizar alimentos com uma melhoria na qualidade e vida de prateleira em comparação com processos tradicionais de pasteurização. Porém, a aplicação em alimentos ainda é relativamente pouco estudada (LIPIEC; JANAS; BARABASZ, 2004; MAXWELL LABORATORIES INC, 1985; NUNES et al., 2008; SILVEIRA et al., 2008).

Campos magnéticos podem ser produzidos de duas formas: utilizando-se partículas eletricamente carregadas em movimento, como uma corrente elétrica em um fio condutor, na forma de bobina, por exemplo; ou através de partículas elementares que possuem um campo magnético intrínseco, como, por exemplo, um ímã permanente (REITZ; MILFORD; CHRISTY, 1982). Os campos magnéticos utilizados nos estudos com materiais biológicos são gerados na forma de bobinas. Em geral, estes campos magnéticos são estáticos ou oscilatórios. Campos magnéticos estáticos possuem intensidade de fluxo constante com o tempo e sua direção mantém-se a mesma, já campos magnéticos oscilatórios podem ser aplicados na forma de ciclos, invertendo sua intensidade em cada ciclo, em ondas senoidais que reduzem com o tempo (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2000). Existem também os campos magnéticos pulsados, que são gerados na forma de pulsos, ou seja, a corrente na bobina é ligada e desligada numa frequência específica. Além disto, os campos magnéticos podem ser homogêneos ou heterogêneos. Em um campo magnético homogêneo, a intensidade do campo é uniforme em toda a área interna da bobina, enquanto que no heterogêneo a intensidade do campo diminui à medida que a distância do centro da bobina aumenta (POTHAKAMURY; BARBOSA-CÁNOVAS; SWANSON, 1993).

Diante da diversidade de parâmetros dos campos magnéticos, há uma grande heterogeneidade nos estudos com aplicação de campo magnético em materiais biológicos, sendo que os equipamentos utilizados são particulares para cada estudo e possuem funcionamentos diferentes em cada caso. Alguns estudos, por exemplo, utilizam um par de bobinas Helmholtz para geração do campo eletromagnético (LAI; SINGH, 2004; PORTACCIO et al., 2005; SALAMINO et al., 2006), enquanto que nos estudos realizados por Novák et al. (2007), Nunes et al. (2008), Silveira et al. (2008) e no presente estudo, o campo magnético é gerado pela passagem de corrente pulsada em uma bobina. Além disto, os parâmetros de processo, tais como intensidade de fluxo do campo magnético e frequência,

variam bastante entre os estudos. Os campos magnéticos utilizados variam de altas intensidades, da ordem de Tesla (HARTE et al., 2001; SAN MARTÍN et al., 2001), até baixas intensidades, da ordem de mili Tesla (Gauss) (DAVIES et al., 1999; NOVÁK et al., 2007).

Maxwell Laboratories Inc (1985) observou redução dos micro-organismos *Streptococcus thermophilus* em leite, *Saccharomyces* em iogurte e suco de laranja, e esporos microbianos em massa de pão, de aproximadamente 2 a 3 ciclos logarítmicos, com campos magnéticos oscilatórios de altas intensidades (7,5 a 40 T) e frequências de 6 a 416 kHz. Nunes et al. (2008) verificaram efeito de campo magnético pulsado de baixa intensidade (aproximadamente 20 mT a 1 Hz) sobre a atividade da enzima polifenoloxidase, responsável pelo escurecimento de bananas.

Em condições *in vitro*, Portaccio et al. (2005) verificaram que campo eletromagnético de 1 mT modula a atividade catalítica da enzima peroxidase de raiz forte (HRP), sendo que a interação entre a taxa de inativação da HRP e o campo magnético depende do estado físico da enzima (imobilizada ou livre) e da frequência do campo, que variou entre 50 e 400 Hz. Interações negativas e positivas foram observadas entre o campo magnético e a taxa de inativação da HRP livre, sendo que o efeito positivo máximo ocorreu por volta de 130 Hz de frequência. Já a HRP imobilizada, forma na qual as enzimas operam *in vivo*, não apresentou interação negativa, mas uma interação positiva máxima a 150 e 170 Hz de frequência, quando confinada em membrana de gelatina e ligada covalentemente em membrana de náilon, respectivamente. De acordo com os autores, os efeitos do campo magnético sobre a HRP foram maiores na enzima livre, intermediários na enzima confinada e menores na enzima covalentemente ligada, uma vez que o processo de imobilização fortalece a estrutura da enzima, e este fortalecimento é dependente da intensidade das forças físicas envolvidas no processo de imobilização.

Salamino et al. (2006) estudaram o efeito de campo magnético sobre a calpaína, protease cuja atividade catalítica é dependente de íons de cálcio, e observaram alterações na atividade enzimática, atribuídas ao efeito do campo magnético sobre a disponibilidade dos íons de cálcio intracelulares.

Lai e Singh (2004) observaram uma menor integridade de DNA cerebral em ratos quando submetidos a campos magnéticos de baixa intensidade (0,01 mT). Estes autores obtiveram redução deste efeito quando utilizaram antioxidantes, confirmando o papel dos radicais livres na ação do campo magnético.

Em ensaios realizados diretamente com culturas de micro-organismos, Novák et al. (2007) observaram que campo magnético de baixa intensidade (10 mT) a 50 Hz reduz o

número de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, *in vitro*, e a taxa de multiplicação das leveduras restantes. Porém, de acordo com estudo realizado por Harte et al. (2001), campo magnético de alta intensidade (18 T) não possui efeito sobre *Saccharomyces cerevisiae* e *Escherichia coli*, *in vitro*, nem mesmo quando combinado com outras tecnologias (SAN MARTÍN et al., 2001).

Conforme revisado por Barbosa-Cánovas et al. (2000), os estudos com aplicação de campos magnéticos em micro-organismos possuem resultados inconsistentes, não existindo, portanto um consenso sobre o assunto. Porém, sabe-se que os efeitos dos campos magnéticos podem variar em função de parâmetros como intensidade e frequência do campo aplicado (LIPIEC; JANAS; BARABASZ, 2004), quantidade de pulsos, temperatura, tempo de exposição ao campo magnético e propriedades do alimento, além de tipo e cepa dos micro-organismos (FOJT et al., 2004; NOVÁK et al., 2007). Além disto, de acordo com Yoshimura[*] (1989 apud POTHAKAMURY; BARBOSA-CÁNOVAS; SWANSON, 1993, p.86), os efeitos dos campos magnéticos sobre a multiplicação de micro-organismos podem ser inibitórios, estimulantes ou sem nenhum efeito, porém, o entendimento das condições em que ocorre cada tipo destes efeitos ainda não está claro pelos estudos observados na literatura até o momento.

Os mecanismos de ação dos campos magnéticos, principalmente sobre os micro-organismos, ainda não estão totalmente elucidados. Maxwell Laboratories Inc (1985), ao registrar sua patente, sugere que o campo magnético oscilatório pode acoplar energia dentro das partes magneticamente ativas das macromoléculas, como o DNA dos micro-organismos, sendo que, várias oscilações podem resultar na quebra das ligações covalentes da molécula de DNA e, desta forma, inibir a multiplicação dos micro-organismos. De acordo com Barbosa-Cánovas, Góngora-Nieto e Swanson (1998), os campos magnéticos influenciam a direção de migração, alterando a reprodução de micro-organismos e mudam a orientação das biomoléculas e biomembranas para uma direção paralela ou perpendicular ao campo magnético aplicado. Além disto, alterações na membrana celular (GOODMAN et al., 1986) e efeitos sobre a síntese de ATP (adenosina trifosfato) (BUCHACHENKO; KUZNETSOV, 2008) também foram documentados e, de acordo com Barbosa-Cánovas et al. (2000) e Pothakamury, Barbosa-Cánovas e Swanson (1993) uma das ações possíveis do campo magnético está relacionada com os íons das células..

Estudos sugerem que os efeitos de campos magnéticos sobre proteínas e enzimas que possuem um grupamento heme em sua estrutura, tais como hemoglobina, mioglobina e HRP,

---

[*] YOSHIMURA, N. Application of magnetic action for sterilization of food. **Shokuhin Kaihatsu**, v.24, p.46-48, 1989 apud POTHAKAMURY, U.R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; SWANSON, B.G. Magnetic-field inactivation of microorganisms and generation of biological changes. **Food Technology**, v.47, p.85-93, 1993, p.86

estão relacionados com o átomo de ferro do grupamento heme e suas mudanças de estado oxidativo (GERSTMAN; AUSTIN, 1981; ROSCA et al., 2002; ZHANG et al., 2009). Rodgers (2009) atribui os efeitos de campos magnéticos à sua interferência nas reações químicas que envolvem radicais, alterando a taxa, rendimento e produtos formados nestas reações.

A maioria dos processos de conservação de alimentos provoca algum tipo de alteração na natureza do alimento, influenciando sua qualidade nutricional ou sensorial. No contexto de qualidade de carnes frescas, considerando-se que sua conservação deve ser direcionada especificamente à redução ou eliminação microbiológica, mantendo-se as demais características de qualidade, a introdução da tecnologia de campos magnéticos parece ser um processo alternativo promissor.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar a utilização de campo magnético pulsado de baixa intensidade (ordem de mili Tesla) na preservação da qualidade microbiológica, cor e estabilidade oxidativa de carne bovina moída durante armazenamento aeróbio refrigerado a 4°C.

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos do presente estudo foram:

a) Avaliar o efeito da exposição ao campo magnético pulsado por 2 horas a diferentes frequências de pulso (1, 30 ou 60 Hz) sobre carne bovina moída, durante armazenamento refrigerado, por meio das análises:

- Físico-químicas e bioquímicas: pH e mioglobina.

b) Avaliar o efeito do tempo de exposição (2 horas ou 12 dias) ao campo magnético pulsado a 1 Hz de frequência sobre carne bovina moída, durante armazenamento refrigerado, por meio das análises:

- Microbiológicas: contagem total de micro-organismos mesófilos aeróbios;
- Físico-químicas e bioquímicas: pH, cor instrumental (escala CIELAB), mioglobina e oxidação lipídica.

4 METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Química Biológica do Departamento de Ciências Básicas (ZAB) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo (USP) na cidade de Pirassununga/SP.

4.1 Obtenção e preparo das amostras

Amostras de peixinho bovino (músculo *Supraspinatus*), cuja localização na carcaça bovina está indicada na Figura 6, foram adquiridas de um entreposto frigorífico da cidade de Pirassununga-SP nos dias de desossa das carcaças.

A padronização na procedência dos animais garantiu a homogeneidade das amostras adquiridas. Todas as amostras foram provenientes de animais fêmeas da raça Angus, com peso de 195 a 210 kg e idade entre 18 e 24 meses. Até os oito meses de idade todos os animais foram alimentados pelo sistema *creep feeding*, que consiste em uma suplementação alimentar em cocho privativo para os bezerros, e posteriormente utilizou-se o confinamento até o abate.

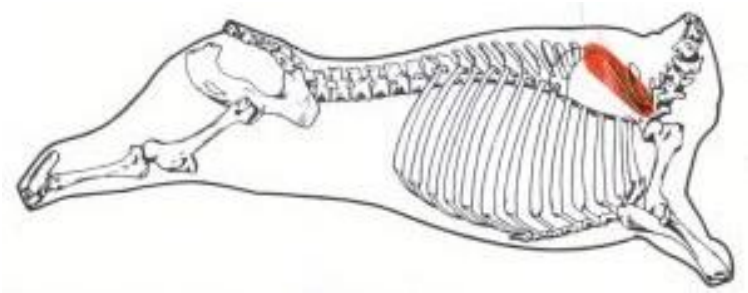


Figura 6 – Localização ilustrativa do corte peixinho (*Supraspinatus*) em carcaça bovina.
Fonte: Feijó (2011)

As amostras foram recebidas embaladas a vácuo e transportadas do frigorífico até o Laboratório de Química Biológica em isopor contendo gelo. No laboratório, a embalagem foi aberta e o músculo inteiro foi imediatamente moído em miniprocessador (marca Philips Walita, modelo RI1364). Foi realizada uma mistura desta carne moída a fim de garantir a homogeneidade das amostras. A carne moída foi subdividida e colocada em bandejas de polipropileno, de dimensões 9 cm x 6,5 cm x 4 cm, previamente identificadas com o tratamento ao qual seriam submetidas (Figura 7). As bandejas foram cobertas com filme comercial de PVC a fim de simular o método convencional de acondicionamento de carne fresca utilizado em balcões de auto-atendimento dos supermercados brasileiros. Durante todo o experimento as amostras foram mantidas a (4±1) ^{o}C, de acordo com temperatura máxima permitida para armazenamento refrigerado de carne moída bovina (BRASIL, 2003b).

Figura 7 – Amostras de carne moída dispostas em bandejas plásticas e cobertas com filme de PVC para início dos experimentos.

4.2 Campo magnético pulsado (CMP)

Os tratamentos com campo magnético pulsado (CMP) foram conduzidos utilizando-se um equipamento denominado *magneto-freezer*, previamente desenvolvido no Laboratório de Física Aplicada e Computacional (LAFAC) do Departamento de Ciências Básicas, da FZEA/USP em Pirassununga/SP. O equipamento consiste em um refrigerador de inox, sem iluminação interna, de dimensões 0,45 m x 0,50 m x 1,3 m (Figura 8), cuja temperatura em seu interior é controlada através de um termômetro digital com visor externo, que foi mantido a (4±1) ^{o}C durante a realização dos experimentos.

(a) (b)

Figura 8 – Equipamento *Magneto-freezer* utilizado para tratamento das amostras com campo magnético pulsado. (a) Equipamento fechado; (b) Equipamento aberto.

Na parte inferior do equipamento há um compartimento composto por uma bobina cilíndrica de fio de cobre tipo solenóide, de diâmetro interno de 20 cm, dotada de sistema de refrigeração para controle de temperatura (Figura 9). Um campo magnético é gerado no interior do solenóide por uma corrente elétrica fornecida à bobina. Esta corrente é controlada por um gerador de funções que liga e desliga o fornecimento de corrente em uma frequência determinada, gerando os pulsos de campo magnético.

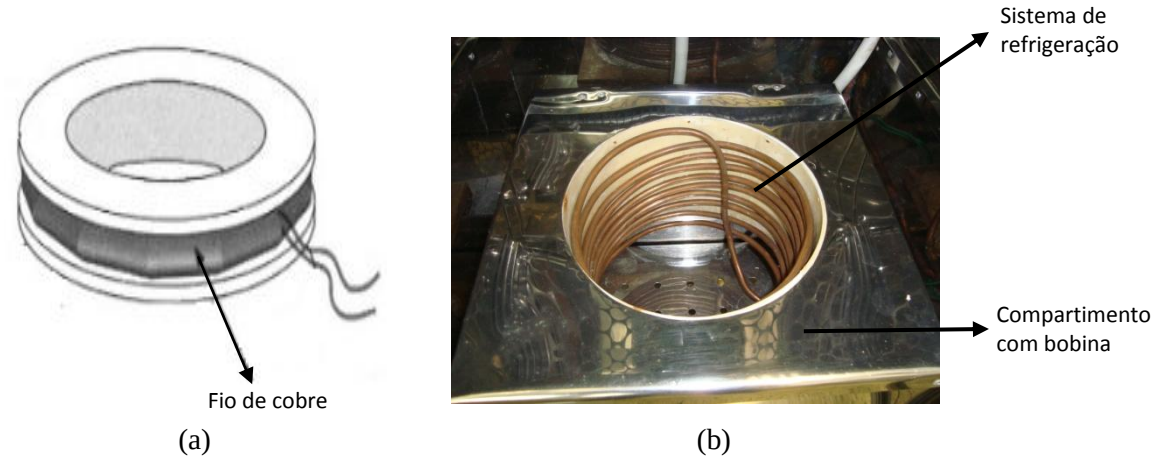


Figura 9 – (a) Desenho esquemático da bobina tipo solenóide; (b) Estrutura no interior do *magneto-freezer*, onde a bobina está instalada (dentro do compartimento de inox), e respectivo sistema de refrigeração.
(a) Adaptado de Salamino et al. (2006)

O comportamento do campo magnético gerado no interior do solenóide varia de acordo com a frequência de pulso utilizada. A 1 Hz de frequência, o campo magnético pulsado possui comportamento de acordo com a Figura 10, no qual um pulso retangular, de aproximadamente 10 mT por 400 ms, é precedido por um pulso transitório, de aproximadamente 25 mT por 100 ms, conforme medição realizada com Sonda Hall.

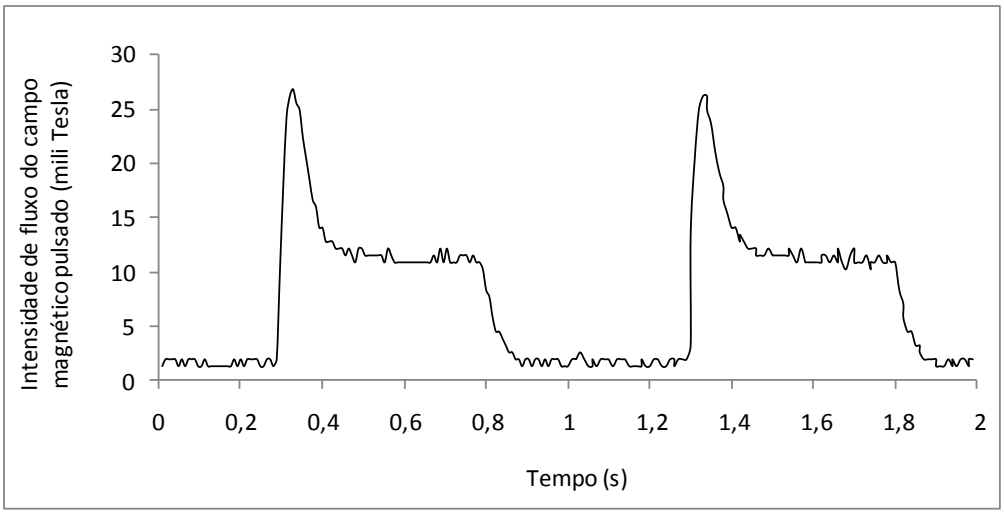


Figura 10 – Perfil do campo magnético pulsado a 1 Hz de frequência, gerado no interior das bobinas do *magneto-freezer*, medido com Sonda Hall.

Acima de 10 Hz de frequência o campo magnético pulsado possui o comportamento de acordo com a Figura 11, no qual a resposta impulsiva da bobina é rápida o suficiente para que a resposta transitória seja desprezível em relação ao pico máximo do campo magnético, mantendo, portanto, a forma de onda gerada, cuja intensidade é no máximo 18 mT.

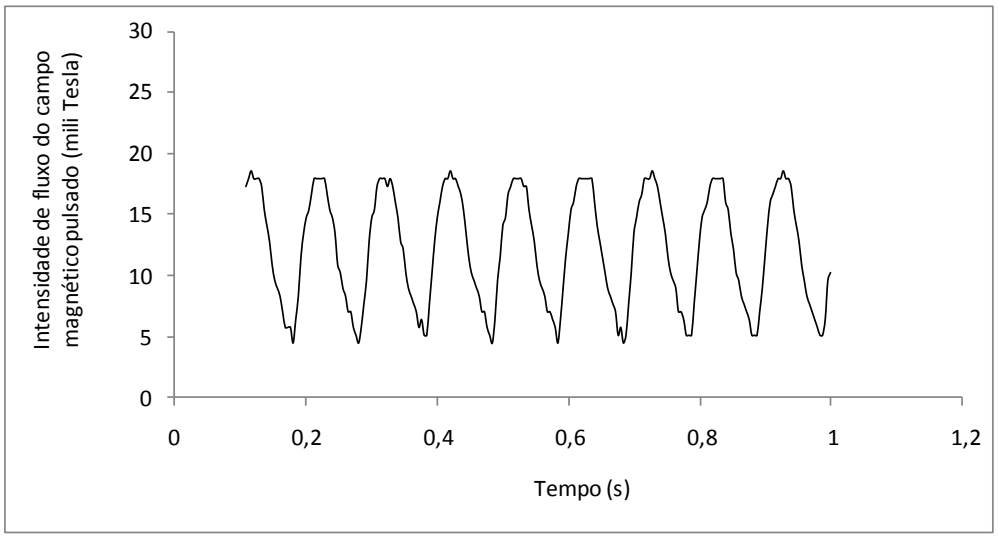


Figura 11 – Perfil do campo magnético pulsado com frequências de 10 Hz, gerado no interior das bobinas do *magneto-freezer* medido com Sonda Hall.

As amostras de carne moídas previamente embaladas em material não condutor, como descrito no item 4.1, foram colocadas no interior do equipamento *magneto-freezer* sob temperatura de (4±1) ^{o}C. Procedeu-se então aos tratamentos com CMP específico para cada bandeja de amostra, posicionando-as individualmente no centro da bobina (Figura 12). Durante os experimentos, manteve-se sempre uma bandeja como sendo o controle, ou seja, sem ter sofrido nenhum tratamento com CMP, armazenada dentro do *magneto-freezer* em compartimento sem influência do campo magnético.

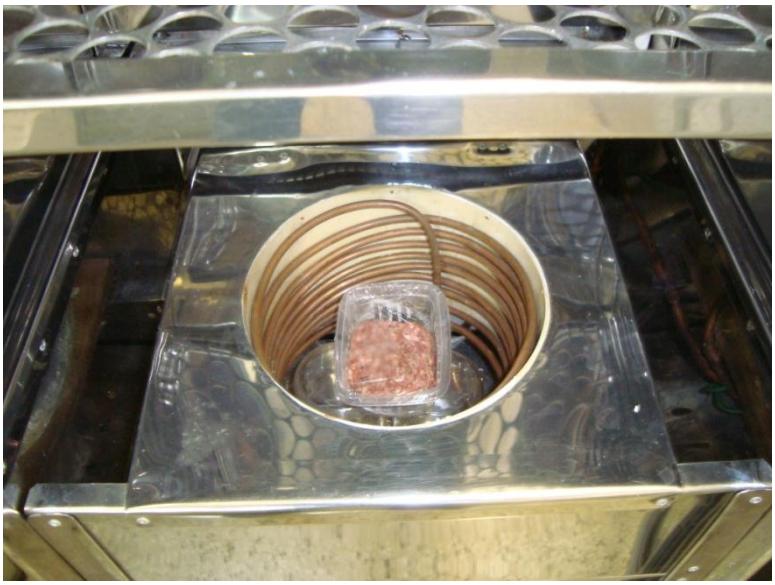


Figura 12 – Amostra posicionada no interior da bobina para receber tratamento com campo magnético pulsado.

4.3 Exposição ao CMP

Os efeitos da exposição das amostras de carne moída ao CMP foram avaliados sob duas condições:

- Exposição ao CMP a diferentes frequências de pulso (1, 30 ou 60 Hz) durante um tempo de exposição fixo (2 horas);

- Variação no tempo de exposição ao CMP (2 horas ou 12 dias) a 1 Hz de frequência.

4.3.1 Efeito da exposição ao CMP a diferentes frequências de pulso

Amostras foram expostas a campo magnético pulsado a 1, 30 ou 60 Hz. Cada amostra foi exposta ao CMP durante 2 horas na frequência específica, de acordo com descrito na Tabela 1. Amostras controle não foram expostas ao campo magnético.

Todas as amostras, tratadas e não tratadas, ficaram armazenadas dentro do equipamento, em um compartimento sem interferência do campo magnético, no escuro, sob temperatura de (4±1) ^{o}C por 6 dias, e foram monitoradas durante este período através de análises de pH e mioglobina.

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos a que foram submetidas as amostras expostas a campos magnéticos pulsados em diferentes frequências.

Tratamento	**Tempo de exposição ao CMP**	**Frequência do CMP**
Controle	Não exposto	-
CMP-2h-1Hz	2 horas	1 Hz
CMP-2h-30Hz	2 horas	30 Hz
CMP-2h-60Hz	2 horas	60 Hz

4.3.2 Efeito do tempo de exposição ao CMP a 1 Hz de frequência

Amostras foram expostas a campo magnético pulsado a 1 Hz de frequência. O tempo de exposição das amostras ao CMP variou de acordo com descrito na Tabela 2. Amostras controle não foram expostas ao campo magnético.

Todas as amostras, tratadas e não tratadas, ficaram armazenadas dentro do equipamento, em um compartimento sem interferência do campo magnético, no escuro, sob temperatura de (4±1) ^{o}C por 12 dias e foram monitoradas durante este período através de análises microbiológicas e físico-químicas e bioquímicas (pH, cor instrumental, mioglobina e oxidação lipídica).

Tabela 2 – Descrição dos tratamentos a que foram submetidas as amostras, variando o tempo de exposição ao campo magnético pulsado a 1 Hz de frequência.

Tratamento	Tempo de exposição ao CMP	Frequência do CMP
Controle	Não exposto	-
CMP-2h-1Hz	2 horas	1 Hz
CMP-12d-1Hz	12 dias	1 Hz

4.4 Análises microbiológicas

Foram realizadas contagens padrão de micro-organismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis no dia de obtenção e preparo das amostras, ou seja, antes do início dos tratamentos com campo magnético pulsado (dia 0) e, posteriormente, nos dias 6 e 12 de armazenamento refrigerado após os tratamentos. Esta análise foi realizada nas amostras controle e nas amostras tratadas a baixa frequência, referentes aos tratamentos CMP-2h-1Hz e CMP-12d-1Hz.

As análises foram conduzidas de acordo com metodologia oficial para análises microbiológicas de produtos de origem animal (BRASIL, 2003a) e conforme descrito por Silva et al. (2007). Pesou-se assepticamente 25 g de amostra das bandejas e homogeneizou-se a 4.000 rpm por 2 minutos em homogeneizador asséptico (marca Tecnal, modelo TE-645) com 225 mL de solução salina peptonada (Oxoid) a 0,1%. O homogenato obtido foi utilizado como a diluição 10^{-1}. A partir desta diluição inicial, preparou-se as demais diluições decimais seriadas desejadas em solução salina peptonada 0,1%. Semeou-se, em duplicata, 0,1 mL de cada diluição em placas de Petri estéreis previamente adicionadas de Ágar Padrão para Contagem - PCA (Oxoid), estando este já solidificado no momento da semeadura. As placas foram incubadas invertidas a (36 ± 1) ^{o}C por 48 horas. Após o período de incubação procedeu-se à contagem das placas, selecionando as que continham entre 25 e 250 colônias. A contagem dos micro-organismos foi obtida pelo número de unidades formadoras de colônia (UFC) e, considerando-se a diluição em questão, os resultados foram expressos em UFC/g de amostra.

4.5 Análises físico-químicas e bioquímicas

As análises de pH, mioglobina, cor instrumental e oxidação lipídica foram realizadas no dia de preparação das amostras, antes do início dos tratamentos com campo magnético (dia 0) e, a cada dois dias de armazenamento refrigerado nas amostras controle e nas amostras tratadas.

4.5.1 pH

O pH foi medido diretamente nas amostras utilizando pHmetro portátil para carnes com eletrodo de penetração (marca Hanna Instruments, modelo HI99163), previamente calibrado com soluções tampão de pH 7,01 e 4,01. Obteve-se uma média de três medidas em posições diferentes nas amostras.

4.5.2 Cor instrumental

As determinações de cor instrumental das amostras foram realizadas no Laboratório de Processos de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP com um colorímetro portátil (marca HunterLab, modelo MiniScan XE Plus), previamente calibrado, que possui fonte de luz D65, ângulo de observação de 10° e abertura da célula de medida de 60 mm de diâmetro. Os valores foram expressos na escala CIELAB, na qual o parâmetro L* corresponde à luminosidade, a* corresponde à variação de cor de verde (-) a vermelho (+) e b* corresponde à variação de cor de azul (-) a amarelo (+). Especificamente em carnes, o valor de a* corresponde ao teor de vermelho e o valor de b* ao teor de amarelo.

As amostras de carne moída foram colocadas e comprimidas em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, preenchendo toda a superfície da placa, e as medidas foram realizadas em três diferentes posições por amostra, obtendo-se uma média destes valores.

4.5.3 Mioglobina

A análise de mioglobina foi feita através de método proposto por Krzywicki (1979) e posteriormente alterado por Tang, Faustman e Hoagland (2004). Este método determina os conteúdos relativos das três formas de apresentação da mioglobina nas amostras de carne: desoximioglobina, oximioglobina e metamioglobina. Porém, uma vez que a metamioglobina é responsável pela coloração marrom indesejável, ela é a forma da mioglobina geralmente utilizada como indicador de qualidade em carnes frescas.

Foram homogeneizados 2 gramas de amostra com 20 mL de tampão fosfato Na^+/K^+ 0,04 mol/L (Sigma) pH 6,8, de acordo com Warriss (1979), por 20 segundos em agitador/triturador (marca Tecnal, modelo Turratec TE-102) a 14.000 rpm. Após deixar esta solução em repouso por 1 hora em gelo, centrifugou-se a 10.000 g, entre 10 e 15 ^oC, por 30 minutos em centrífuga refrigerada (marca Eppendorf, modelo 5810R). Filtrou-se o sobrenadante em papel filtro qualitativo Whatman n.1 e o volume da solução foi completado para 25 mL com o tampão fosfato Na^+/K^+ 0,04 mol/L pH 6,8. Após homogeneizar, filtrou-se em membrana de 0,22 µm (marca TPP) para evitar turbidez. As absorbâncias do filtrado foram verificadas nos comprimentos de onda de 525, 503, 557 e 582 nm em espectrofotômetro (marca Beckman Coulter, modelo DU800). Durante as análises as amostras foram mantidas em gelo e evitou-se a exposição à luz a fim de evitar alterações no decorrer do procedimento. As análises foram realizadas em duplicata, obtendo-se a média dos valores.

Os conteúdos relativos de desoximioglobina, oximioglobina e metamioglobina foram calculados conforme proposto por Tang, Faustman e Hoagland (2004), de acordo com as equações (1), (2) e (3), respectivamente.

$$\text{Desoximioglobina } (\%\ DeMb) = -0{,}543R_1+1{,}594R_2+0{,}552R_3-1{,}329 \qquad (1)$$

Oximioglobina (*% MbO_2*) = $0{,}722R_1-1{,}432R_2-1{,}659R_3+2{,}599$ (2)

Metamioglobina (*% MetMb*) = $-0{,}159R_1-0{,}085R_2+1{,}262R_3-0{,}520$ (3)

Onde: R_1, R_2 e R_3 são razões entre as absorbâncias A^{582}/A^{525}, A^{557}/A^{525} e A^{503}/A^{525}, respectivamente.

4.5.4 Oxidação lipídica

Porções das amostras de cada bandeja foram separadas e congeladas em nitrogênio líquido, nos dias específicos de armazenamento refrigerado (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12), para posterior análise de oxidação lipídica, ao final do experimento.

A oxidação lipídica das amostras de carne moída foi determinada de acordo com metodologia proposta por Vyncke (1970, 1975) com modificações, que determina as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e cujo resultado é expresso em concentração de malondialdeído (MDA) na amostra.

Foram pesados 5 gramas das amostras, assim que foram descongeladas, e posteriormente homogeneizadas com 15 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) 7,5%, contendo 0,1% de EDTA e 0,1% de propilgalato, (Sigma) por 30 segundos a 14.000 rpm em agitador/triturador (marca Tecnal, modelo Turratec TE-102). O homogenato foi filtrado com papel filtro qualitativo Whatman n.1. Pipetou-se 3 mL do filtrado e adicionou-se 3 mL de solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 mol/L (Sigma) em tubo de ensaio de vidro com rosca, em duplicata. Os tubos foram levados em banho-maria a 100 ^{o}C por 40 minutos. Após o banho-maria os tubos foram colocados em gelo por 2 minutos a fim de cessar a reação. As absorbâncias das soluções foram medidas em comprimento de onda de 532 e 600 nm em espectrofotômetro (marca Beckman Coulter, modelo DU800). A absorbância da amostra foi considerada como a diferença entre a absorbância a 532 nm e a absorbância a 600 nm, que corrige possível turbidez da amostra. Foram obtidas as médias das duplicatas.

Os valores finais de TBARS foram calculados a partir de curva padrão com oito pontos de diluições entre 0,02 e 1,2 µg/mL do padrão TEP (1,1,3,3 Tetraetoxipropano), e expressos como mg de malondialdeído por kg de amostra.

4.6 Desenho experimental

Ao todo foram adquiridos músculos individuais de cinco animais em datas diferentes. Cada músculo, após moagem e homogeneização, foi subdividido em porções iguais de aproximadamente 150g, e utilizado para composição das bandejas referentes a cada tratamento, conforme representado na Figura 13, sendo, portanto, cada bandeja de carne moída considerada uma unidade amostral do experimento (n=5). Desta forma, as análises microbiológicas, bioquímicas e físico-químicas foram realizadas ao longo do tempo de armazenamento refrigerado a partir de porções de cada bandeja.

Alguns tratamentos possuem número de repetições maior que 5 (n>5), pois nestes casos foram utilizadas mais de uma bandeja para um mesmo músculo. Já nos casos em que o número de repetições é menor que 5 (n<5), não foram utilizados todos os músculos para realização da análise, porém, as bandejas utilizadas representavam músculos diferentes. Desta forma, o número específico de repetições foi apresentado em cada tabela e figura de resultados.

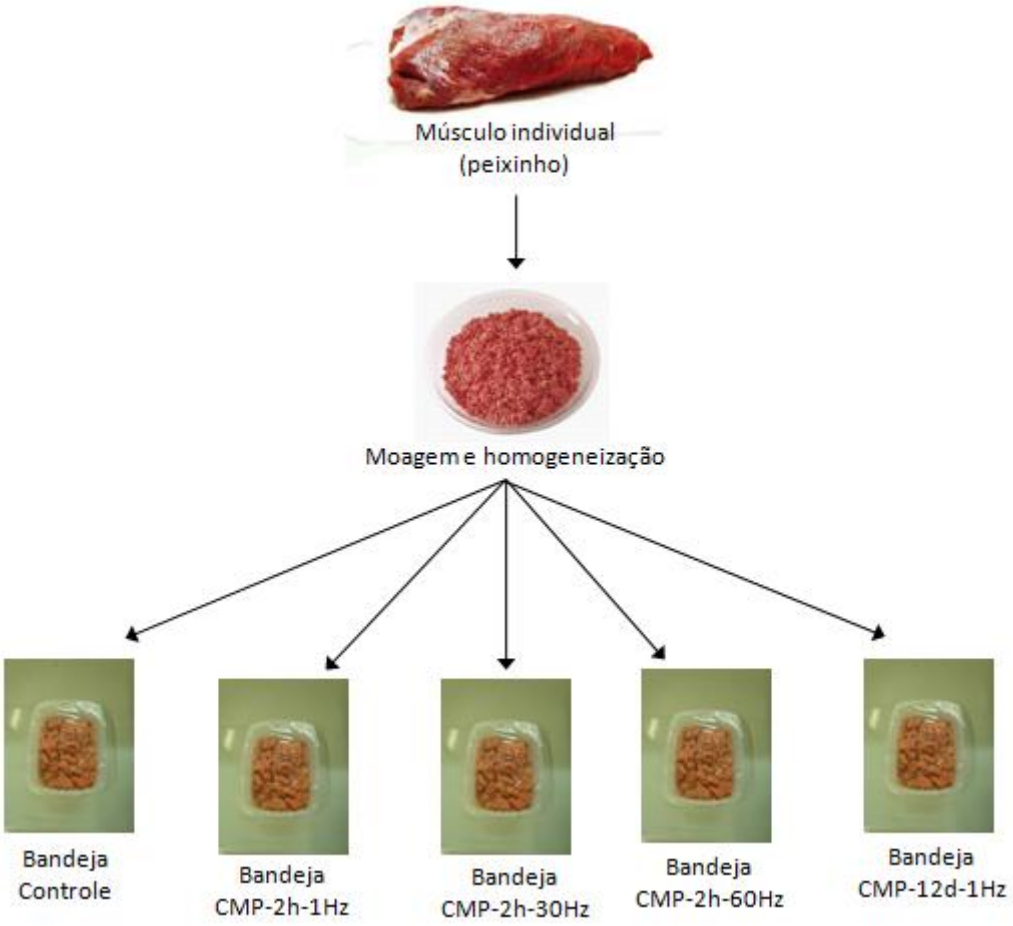


Figura 13 – Desenho esquemático da distribuição das amostras nas bandejas a partir do músculo de peixinho bovino.

4.7 Análise estatística

Os dados experimentais foram analisados pela Análise de Variância (ANOVA) através do software Statistica 7.0 (StatSoft Inc.). Foram analisadas, para cada variável em questão, as médias dos tratamentos em cada tempo específico de armazenagem refrigerada, e as médias dos tempos de armazenagem refrigerada de cada tratamento específico. Nos casos em que a análise ANOVA indicou diferença estatística entre as médias ($P<0,05$), procedeu-se ao Teste da Amplitude Múltipla de Duncan ao nível de significância de 5% a fim de verificar quais médias diferiam entre si.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Efeito da exposição ao CMP a diferentes frequências de pulso

O efeito da exposição ao CMP a diferentes frequências de pulso sobre as amostras de carne bovina fresca moída foi avaliado por meio de análises de pH e mioglobina das amostras armazenadas a 4°C por 6 dias após os tratamentos.

5.1.1 pH

Os valores de pH das amostras de carne controle e tratadas com CMP, de acordo com nomenclatura definida na Tabela 1, durante o período de armazenamento refrigerado estão apresentados na Tabela 3. Não houve alteração significativa no pH das amostras durante o período de armazenamento refrigerado em nenhum tratamento específico. Da mesma forma, a exposição ao CMP não alterou significativamente o pH das amostras de carne tratadas com relação às amostras controle em nenhum tempo específico de armazenamento, não ocorrendo também variação de pH entre as diferentes frequências de fluxo do CMP.

Nottingham (1982) recomenda uma faixa de normalidade de pH para carne bovina fresca entre 5,4 e 5,8, já Skrökki (1997) considera que valores de pH entre 5,3 e 6,0 podem ser encontrados em carne bovina moída de boa qualidade. Os valores de pH obtidos no presente estudo mantiveram-se dentro de ambas as recomendações durante os seis dias de armazenamento a 4°C, sendo 5,54 e 5,80 o menor e maior valor obtido, respectivamente.

Tabela 3 – Valores de pH das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP a diferentes frequências, durante o período de armazenamento a 4°C.

Tratamento	**Tempo de armazenamento (dias)**			
	0	**2**	**4**	**6**
Controle	5,67±0,05^{aA}	5,63±0,05^{aA}	5,70±0,05^{aA}	5,71±0,05^{aA}
CMP-2h-1Hz	5,67±0,05^{aA}	5,68±0,09^{aA}	5,80±0,07^{aA}	5,78±0,06^{aA}
CMP-2h-30Hz	5,64±0,05^{aA}	5,58±0,01^{aA}	5,63±0,04^{aA}	5,62±0,06^{aA}
CMP-2h-60Hz	5,64±0,05^{aA}	5,54±0,18^{aA}	5,67±0,01^{aA}	5,61±0,05^{aA}

Valores médios ± erro padrão. (n=5 para Controle e CMP-2h-1Hz; n=2 para CMP-2h-30Hz e CMP-2h-60Hz). Médias com letra minúscula igual na mesma coluna não apresentam diferença significativa (P<0,05). Médias com letra maiúscula igual na mesma linha não apresentam diferença significativa (P<0,05).

Valores de pH semelhantes aos obtidos no presente estudo foram observados por Pereira (2002), que durante a desossa das carcaças obteve valor médio de 5,63 em peixinho bovino, sendo que durante 21 dias de maturação entre 0 e 1°C em embalagem a vácuo, obteve valor máximo de pH de aproximadamente 5,8 no 14º dia.

Amostras de carne bovina expostas a radiação ionizante de intensidade entre 2,2 e 2,4 kGy por aproximadamente 50 minutos apresentaram maiores valores de pH, em média 5,81, aos 21 dias de armazenamento a 2ºC, com relação a amostras não irradiadas, que tiveram valor médio de 5,12 conforme verificado por Gamage et al. (1997).

Sohn et al. (2009) avaliaram o efeito da radiação ionizante a 5 ou 10 kGy, adição de α-tocoferol e/ou uso de embalagem com carvão no pH de carne bovina moída durante armazenamento a 4°C. Em todos os casos ocorreram alterações nos valores de pH da carne durante o período de armazenamento. As amostras que não sofreram nenhuma destas intervenções apresentaram pH médio de 5,54, 5,66 e 5,71 nos dias 0, 3 e 7 de armazenamento, respectivamente, sendo coerentes com os obtidos no presente trabalho para as amostras de carne moída controle (Tabela 3).

5.1.2 Mioglobina

Os resultados de conteúdo relativo das formas de apresentação da mioglobina das amostras de carne moída controle e tratadas com CMP, de acordo com nomenclatura definida na Tabela 1, durante os 6 dias de armazenamento refrigerado estão apresentados na Figura 14. O conteúdo relativo de desoximioglobina apresentou valores iguais ou muito próximos de zero em todos os períodos de armazenamento, para todos os tratamentos, uma vez que o processo de moagem proporciona a completa oxigenação da mioglobina, devido ao contato prolongado com o oxigênio atmosférico. Desta forma, durante todo o armazenamento refrigerado, as amostras de carne moída apresentaram apenas as formas oximioglobina e metamioglobina.

É possível verificar na Figura 14 que durante o período de armazenamento refrigerado houve redução na proporção de oximioglobina e consequente aumento na proporção de metamioglobina em todas as amostras. Este comportamento é típico no caso de armazenamento aeróbio de carne moída (MANCINI; HUNT, 2005).

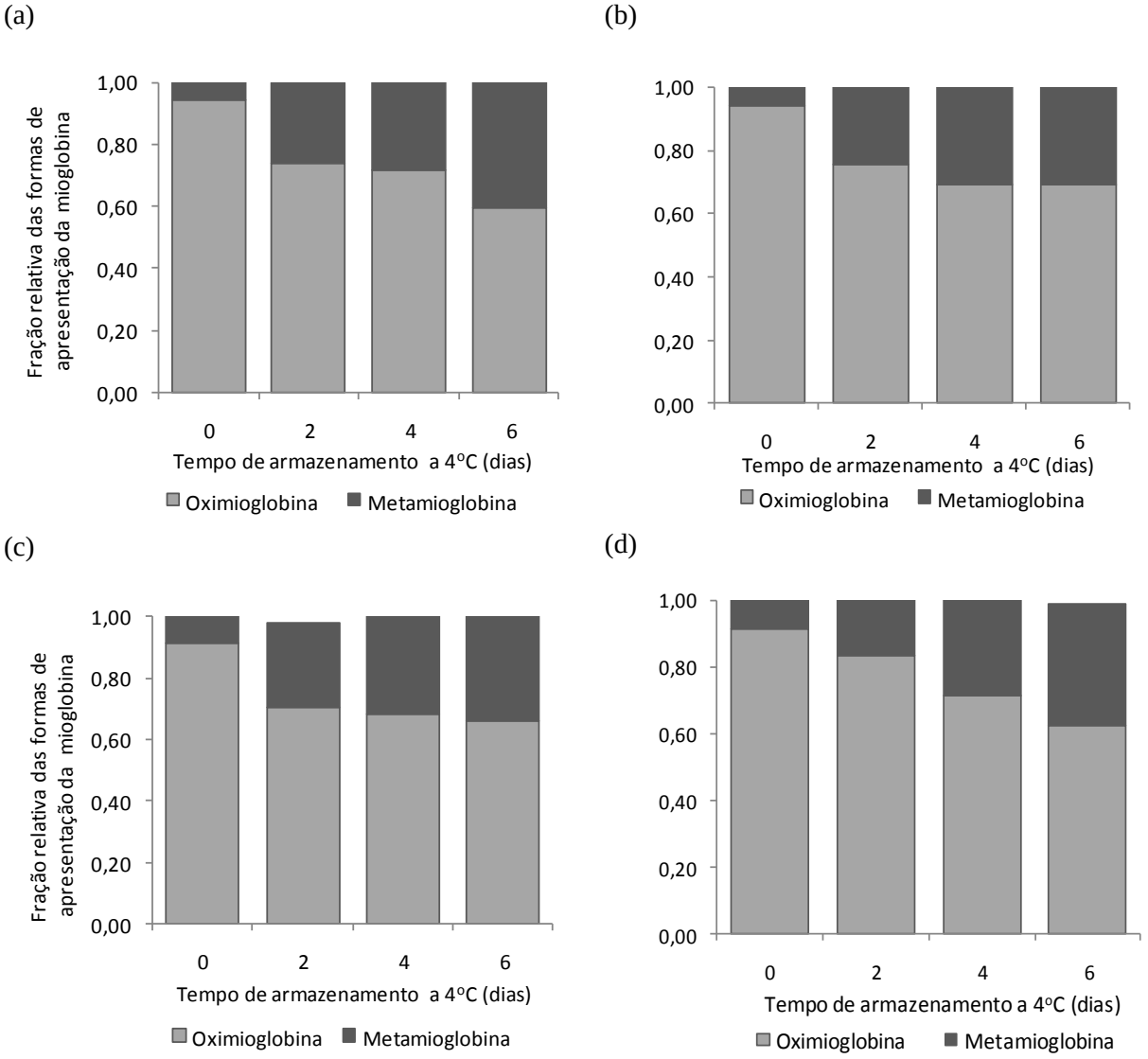


Figura 14 – Fração relativa das formas de apresentação da mioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, durante período de armazenamento a 4ºC. (a) Controle; (b) CMP-2h-1Hz; (c) CMP-2h-30Hz; (d) CMP-2h-60Hz.

No final do período de armazenamento refrigerado (6º dia), os teores de metamioglobina das amostras expostas ao CMP, em todos os tratamentos, apresentaram-se por volta de 14% menores em relação ao teor de metamioglobina das amostras controle, de acordo com a Tabela 4. Isto indica que o campo magnético afeta, de alguma forma, o processo natural de oxidação da mioglobina durante armazenamento aeróbio, reduzindo a velocidade de formação de metamioglobina. Entretanto, não houve efeito significativo das diferentes frequências de pulso do CMP sobre a formação de metamioglobina (Tabela 4), o que indica

que, nas baixas frequências utilizadas neste estudo, a ação do CMP sobre a mioglobina independe da frequência de pulso utilizada.

Tabela 4 – Fração de metamioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP a diferentes frequências, no 6º dia de armazenamento a 4ºC.

Tratamento	**Fração de metamioglobina**
	Dia 6
Controle	0,42±0,01[b]
CMP-2h-1Hz	0,36±0,01[a]
CMP-2h-30Hz	0,35±0,02[a]
CMP-2h-60Hz	0,37±0,01[a]

Valores médios ± erro padrão. (n=7 para Controle e CMP-2h-1Hz; n=2 para CMP-2h-30Hz e CMP-2h-60Hz). Médias com letras diferentes apresentam diferença significativa (P<0,05).

Do ponto de vista da qualidade sensorial da carne fresca, a redução na formação de metamioglobina com consequente redução na formação da coloração marrom é altamente desejável, principalmente em produtos, como a carne moída, que são tradicionalmente vendidos em embalagens aeróbias, e nos quais a coloração vermelho-brilhante da carne é fator decisivo no momento da compra (MANCINI; HUNT, 2005).

5.2 Efeito do tempo de exposição ao CMP a 1 Hz de frequência

O efeito do tempo de exposição ao CMP a 1 Hz de frequência sobre a carne bovina moída foi avaliado por meio de análises microbiológicas e análises físico-químicas e bioquímicas, durante 12 dias de armazenamento a 4ºC, das amostras expostas por 2 horas ao CMP ou expostas sem interrupção durante os 12 dias de armazenamento.

5.2.1 Análises microbiológicas

As contagens totais de micro-organismos aeróbios mesófilos das amostras controle e tratadas com CMP, de acordo nomenclatura definida na Tabela 2, durante o período de armazenamento a 4°C estão apresentadas na Figura 15. As amostras apresentaram no dia 0, antes dos tratamentos, em média, 3,3 log_{10} UFC/g de carne. Em todos os casos não houve alteração significativa na contagem microbiológica até o 6º dia de armazenamento refrigerado, o que demonstra, de acordo com perfil apresentado na Figura 15, que os micro-organismos encontravam-se na fase lag de crescimento, na qual os micro-organismos estão se adaptando ao meio (ROBAZZA; TELEKEN; GOMES, 2010). Os resultados estão de acordo com Limbo et al. (2010), que observaram um tempo de duração da fase lag de 6,6 dias para contagem bacteriana total em carne moída armazenada a 4,3^{o}C com contagens iniciais de aproximadamente 4 log_{10}UFC/g de carne.

No 12° dia, as amostras controle apresentaram um aumento significativo de 2 ciclos logarítmicos com relação ao dia inicial, atingindo em média 5,3 log_{10} UFC/g de carne, enquanto que o tratamento CMP-2h-1Hz teve aumento significativo de apenas 0,7 ciclos logarítmicos, atingindo 4,0 log_{10} UFC/g de carne, e o tratamento CMP-12d-1Hz aumentou de 1,5 ciclos logarítmicos, atingindo 4,8 log_{10} UFC/g de carne, durante o mesmo período. Diante deste aumento observado, no dia 12 os micro-organismos encontravam-se na fase exponencial de crescimento, na qual já estão adaptados ao ambiente em que se encontram e seus metabolismos dirigem-se para a reprodução (ROBAZZA; TELEKEN; GOMES, 2010).

Os comportamentos observados na Figura 15 confirmam observação realizada por Novák et al. (2007) de que o campo magnético elimina uma parte dos micro-organismos, talvez os mais sensíveis a campos externos, e o restante deles continuam desenvolvendo-se sem nenhuma perturbação.

Não há um parâmetro oficial definido na legislação brasileira com relação à contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, porém, as baixas contagens obtidas tanto no início quanto no final do presente estudo indicam que as amostras apresentavam-se em boas condições de qualidade microbiológica e foram obtidas em condições higiênico-sanitárias satisfatórias, em termos de micro-organismos mesófilos aeróbios.

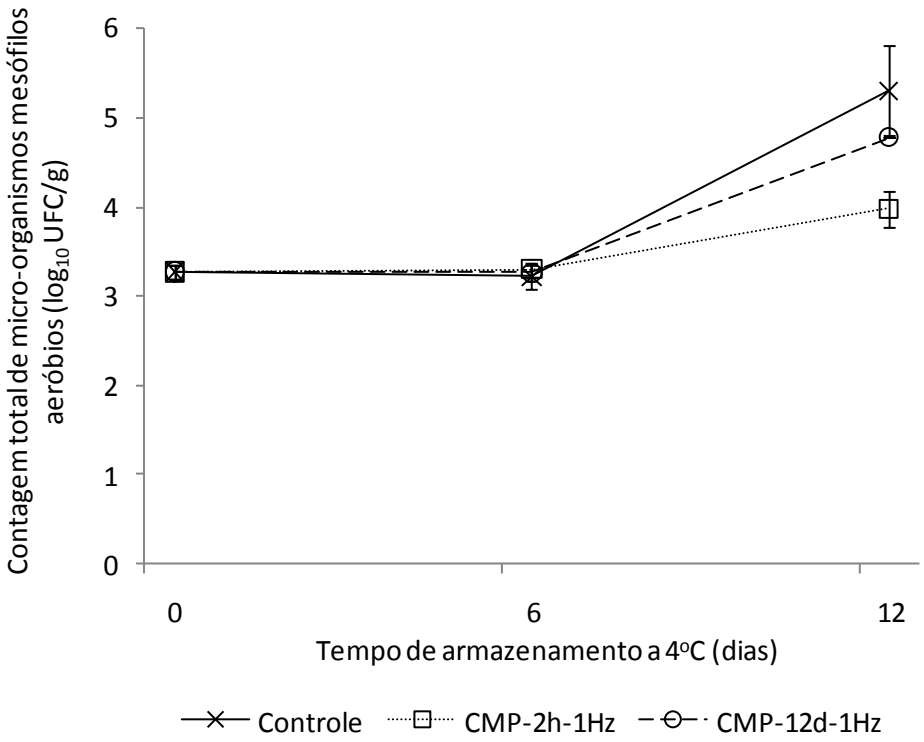


Figura 15 – Contagem padrão de micro-organismos mesófilos aeróbios das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante o armazenamento a 4ºC.
Valores médios com barras verticais representando o erro padrão (n=4).

De acordo com Skrökki (1997), recomendações consideradas pela maioria dos laboratórios na Finlândia, definem que carne moída em boas condições deve conter menos de 7 $\log_{10}$UFC/g de carne, em condições toleráveis podem ser obtidas contagens entre 7 e 8 $\log_{10}$UFC/g de carne, enquanto que carne moída de má qualidade, inadequada ao consumo, é definida com contagens maiores que 8 $\log_{10}$UFC/g de carne, o que confirma a boa qualidade da carne obtida no presente estudo. De acordo com Porto (2006), quando a população bacteriana atinge entre 6 e 7 $\log_{10}$UFC/g de carne, o odor torna-se perceptível, e a partir de 8 $\log_{10}$UFC/g de carne, a mesma apresenta também a formação de limo e alterações de cor e consistência.

Marchi (2006) analisou 60 amostras de carne bovina moída de diferentes supermercados e açougues, com relação à contagem padrão em placas de micro-organismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis, e obteve valores entre 3 e 8 $\log_{10}$UFC/g de carne, sendo que a maioria das amostras analisadas (75%) apresentou contagens entre 4 e 6 $\log_{10}$UFC/g de carne. Resultados semelhantes foram encontrados por

Heredia et al. (2001), que ao analisarem 88 amostras de carne moída obtiveram, em 75% das amostras, contagens de mesófilos maior ou igual a 5 $\log_{10}$UFC/g de carne.

Skrökki (1997) analisou 37 amostras de carne bovina moída e observaram que, em termos de micro-organismos mesófilos aeróbios, 80% das amostras apresentaram boa qualidade higiênica (<7 $\log_{10}$UFC/g de carne), 20% apresentaram qualidade tolerável (7 a 8 $\log_{10}$UFC/g de carne) e apenas uma amostra apresentou má qualidade (>8 $\log_{10}$UFC/g de carne). O autor também analisou as contagens de coliformes totais das mesmas amostras e obteve valores máximos de 2 $\log_{10}$UFC/g de carne. Considerando-se a recomendação de menos de 3 $\log_{10}$UFC/g de carne de coliformes totais para uma carne de boa qualidade, o autor sugere que a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios é melhor indicador de qualidade higiênica em carne moída do que a contagem de coliformes totais.

Rao e Ramesh (1988) compararam amostras de carne moída obtidas em abatedouro e em loja de varejo, e observaram que as amostras da loja de varejo apresentaram maiores contagens totais de mesófilos, por volta de 6 $\log_{10}$UFC/g de carne, do que as amostras do abatedouro, por volta de 4 $\log_{10}$UFC/g de carne. Estes resultados indicaram melhores condições higiênico-sanitárias no abatedouro do que na loja de varejo.

No presente estudo, o menor aumento na contagem de mesófilos das amostras do tratamento CMP-2h-1Hz após 12 dias de armazenamento refrigerado (Figura 15) indica que a exposição ao CMP à frequência de 1Hz por 2 horas reduziu a multiplicação de micro-organismos mesófilos das amostras frescas de carne bovina moída, durante seu posterior armazenamento a 4°C. Já a exposição contínua ao CMP de 1 Hz durante os 12 dias de armazenamento teve um comportamento bastante similar ao controle (Figura 15), e portanto supõe-se que o tratamento contínuo com CMP não obteve um efeito significativo com relação à microbiologia das amostras.

Não existe na literatura relatos de exposição por tempo prolongado de micro-organismos a campos magnéticos. Porém, Novák et al. (2007) verificaram que a exposição de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, em placas de ágar, ao campo magnético de 10 mT a 50 Hz de frequência causou redução na contagem dos micro-organismos após 6 minutos de exposição, mas com a exposição mais prolongada de até 48 minutos os valores permaneceram inalterados. Por outro lado Fojt et al. (2004) avaliaram a viabilidade de *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxylata* e *Staphylococcus aureus* em diferentes tempos de exposição ao campo magnético (0 a 25 minutos) de 10 mT a 50 Hz de frequência e observaram que as contagens bacterianas em todos os casos reduziu com o aumento no tempo de exposição ao

campo magnético, mas como tratam-se de tempos menores do que os utilizados no presente estudo, não são parâmetros para comparação.

Efeitos de campo magnético sobre micro-organismos, assim como no presente estudo, também já foram verificados por diferentes autores (MAXWELL LABORATORIES INC, 1985; NOVÁK et al., 2007; TSUCHIYA et al., 1996; SILVEIRA et al., 2008), que obtiveram resultados variados, uma vez que os efeitos dos campos magnéticos dependem do tipo e da cepa do micro-organismo. A análise microbiológica realizada no presente estudo é uma análise geral, e por isto não é possível identificar quais micro-organismos estavam presentes nas amostras para efeito de comparação.

Redução na contagem de micro-organismos também foi verificada por Novák et al. (2007), em leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, *in vitro* tratadas com campo magnético de baixa intensidade (10 mT) a 50 Hz com relação a amostras não tratadas, sem diferença quando utilizados diferentes tempos de exposição ao campo magnético (12 ou 24 minutos). Os autores, em comparação com outros estudos, afirmam que em geral as bactérias são mais sensíveis aos campos magnéticos que as leveduras, devido às diferenças nos tipos de células (eucariótica e procariótica).

Lipiec, Janas e Barabasz (2004) estudaram a influência de campo magnético oscilatório de 20 T na sobrevivência *in vitro* das bactérias *Ervinia carotovora* e *Streptomyces scabies* e do fungo *Alternaria solani*, micro-organismos patogênicos de batatas, e obtiveram reduções de 4, 3 e 1 ciclos logarítmicos, respectivamente. Enquanto que Maxwell Laboratories Inc (1985) observou reduções de 2 a 3 ciclos logarítmicos em *Streptococcus thermophilus* e *Saccharomyces* com campos magnéticos oscilatórios entre 7,5 e 40 T e frequências entre 6 e 416 kHz.

Grande parte dos estudos indicam que a ação de campos magnéticos sobre micro-organismos ocorre em altas intensidades, entre 5 e 50 Tesla (AHMED; RAMASWAMY, 2007; TSUCHIYA et al., 1996), porém já foi demonstrado em outros estudos que campos magnéticos de baixa intensidade, da ordem de mili Tesla, também têm efeito sobre micro-organismos (FOJT et al., 2004; NOVÁK et al., 2007), assim como demonstrado no presente estudo, com campo magnético de aproximadamente 25 mT.

De acordo com Pothakamury, Barbosa-Cánovas e Swanson (1993), em geral, os campos magnéticos alteram a reprodução de micro-organismos, causando mudanças na síntese de DNA, na orientação das biomoléculas e biomembranas para uma direção paralela ou perpendicular ao campo magnético aplicado e mudanças no movimento iônico através da membrana plasmática. Buchachenko e Kuznetsov (2008) observaram efeitos de campos

magnéticos de 55 e 80 mT sobre a síntese de ATP *in vitro*, o que pode também ajudar a explicar a inativação de micro-organismos.

Outros processos utilizados na conservação de carnes frescas possuem ações efetivas sobre micro-organismos, bastante registradas na literatura. A utilização de atmosfera modificada em carnes moídas reduz a contagem microbiológica em comparação com a embalagem com ar atmosférico (ESMER et al., 2011; SØRHEIM; NISSEN; NESBAKKEN, 1999). Esmer et al. (2011) observaram efeitos de diferentes atmosferas modificadas sobre as contagens de bactérias ácido-láticas, *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae e Brochothrix thermosphacta* durante armazenamento a 4°C e concluíram que a melhor preservação da carne moída fresca ocorreu com a combinação de gases de 50% O_2, 30% CO_2 e 20% N_2. Sørheim, Nissen e Nesbakken (1999) observaram que independente da embalagem utilizada, a taxa de multiplicação dos micro-organismos *Brochothrix thermosphacta* e *Pseudomonas* spp em carne moída é significativamente maior a 8°C do que a 4°C, o que confirma o efeito da temperatura de armazenamento sobre a multiplicação microbiana.

Chen et al. (2007) relataram que contagens bacterianas totais incubadas a 25°C foram reduzidas em 1,05, 1,44 e 1,66 ciclos logarítmicos, após 10 dias de armazenamento a 7°C, em amostras de bife bovino irradiadas com raios gama a 1,13, 2,09 e 3,17 kGy, respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos por Lacroix et al. (2004), que observaram reduções nas contagens bacterianas totais incubadas a 35°C de 2, 3 e 4 ciclos logarítmicos em carne moída que receberam doses de irradiação de 1, 2 e 3 kGy, respectivamente, após 1 dia do tratamento. O tratamento com radiação gama produziu uma inibição imediata e dose-dependente da multiplicação dos micro-organismos. Lacroix et al. (2004), com base em um nível limite de 6 log_{10}UFC/g de carne de contagem bacteriana total, estimaram a vida de prateleira das amostras de carne moída armazenadas a 4°C em 4, 7 e 10 dias, para as doses de irradiação de 1, 2 e 3 kGy, respectivamente. Baseado neste nível de limite utilizado no estudo anterior, as amostras obtidas e armazenadas nas condições do presente estudo obtiveram maior tempo de vida de prateleira, uma vez que nenhuma delas atingiu a contagem de 6 log_{10}UFC/g de carne durante os 12 dias de armazenamento a 4°C.

5.2.2 Análises físico-químicas e bioquímicas

5.2.2.1 pH

Os valores de pH das amostras controle e expostas com CMP, de acordo nomenclatura definida na Tabela 2, durante o período de armazenamento refrigerado, estão apresentados na Tabela 5. Não ocorreram diferenças significativas nos valores de pH das amostras entre os tratamentos em nenhum tempo específico de armazenamento. Além disto, o pH das amostras não alterou durante o período de armazenamento refrigerado em nenhum tratamento específico.

Tabela 5 – Valores de pH das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante o período de armazenamento a 4°C.

Tratamento	**Tempo de armazenamento (dias)**						
	0	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**	**12**
Controle	5,67±0,05^{aA}	5,63±0,05^{aA}	5,70±0,05^{aA}	5,71±0,05^{aA}	5,65±0,03^{aA}	5,56±0,10^{aA}	5,72±0,04^{aA}
CMP-2h-1Hz	5,67±0,05^{aA}	5,68±0,09^{aA}	5,80±0,07^{aA}	5,78±0,06^{aA}	5,64±0,01^{aA}	5,51±0,06^{aA}	5,79±0,08^{aA}
CMP-12d-1Hz	5,67±0,05^{aA}	5,77±0,03^{aA}	5,78±0,09^{aA}	5,80±0,09^{aA}	5,70±0,08^{aA}	5,47±0,02^{aA}	5,69±0,10^{aA}

Valores médios ± erro padrão (n=5). Médias com letra minúscula igual na mesma coluna não apresentam diferença significativa (P<0,05). Médias com letra maiúscula igual na mesma linha não apresentam diferença significativa (P<0,05).

Mesmo durante um maior período de armazenamento refrigerado (12 dias), em comparação com os dados da Tabela 3 (6 dias), a exposição ao CMP não afetou o pH das amostras de carne bovina moída, independente do tempo de exposição utilizado. Os valores variaram de 5,47 a 5,80, mantendo-se dentro das faixas de normalidade sugeridas por Nottingham (1982) e Skrökki (1997) durante os 12 dias de armazenamento a 4°C.

Resultados semelhantes ao presente estudo foram observados por Gamage et al. (1997), que armazenaram carne bovina moída de pH 5,8, em embalagem cilíndrica compacta de baixa permeabilidade ao oxigênio, por 18 dias a 2 ou 7ºC. O valor mínimo de pH

observado neste período foi 5,4, que foi obtido quando as amostras apresentaram valores máximos de contagem bacteriana aeróbia e anaeróbia, nos dias 7 e 14 de armazenamento a 7 e 2ºC, respectivamente.

Reduções dos valores de pH durante o armazenamento refrigerado em carnes frescas está relacionado com um aumento de contagem bacteriana, principalmente devido à produção de ácido lático por bactérias ácido láticas (GAMAGE et al., 1997; SØRHEIM; NISSEN; NESBAKKEN, 1999). No presente trabalho, a não ocorrência de variações de pH durante o armazenamento pode ser devido à baixa contagem microbiológica observada e, pelo fato de que as bactérias ácido láticas são mais frequentes em carnes frescas embaladas a vácuo ou com baixo teor de oxigênio do que em embalagem aeróbia (BORCH; KANT-MUERMANS; BLIXT, 1996).

5.2.2.2 Cor instrumental

As determinações de cor instrumental das amostras de carne fresca moída durante o período de armazenamento refrigerado a 4°C, representadas pelos parâmetros L* (luminosidade), a* (teor de vermelho) e b* (teor de amarelo) estão apresentadas na Tabela 6, cujos dados estão ilustrados na Figura 16.

Tabela 6 – Cor das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante o período de armazenamento a 4°C.

	Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)						
		0	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**	**12**
L*	Controle	32,19±0,70^{aA}	34,27±0,44^{aA}	34,05±0,71^{aA}	35,41±0,86^{aA}	34,00±1,10^{aA}	36,13±1,42^{aA}	36,50±1,54^{aA}
	CMP-2h-1Hz	32,19±0,70^{aA}	35,15±0,45^{aA}	35,64±0,60^{aA}	35,63±0,22^{aA}	34,06±0,99^{aA}	35,21±1,00^{aA}	35,89±0,83^{aA}
	CMP-12d-1Hz	32,19±0,70^{aA}	35,71±0,45^{aA}	35,56±1,48^{aA}	34,97±1,43^{aA}	35,15±0,19^{aA}	35,63±1,18^{aA}	34,89±1,43^{aA}
a*	Controle	12,28±0,26^{aD}	11,13±0,59^{aCD}	11,02±0,47^{aCD}	10,17±0,10^{aBC}	10,20±0,23^{aBC}	9,61±0,03^{aB}	7,48±0,59^{aA}
	CMP-2h-1Hz	12,28±0,26^{aC}	12,38±0,64^{aC}	9,72±0,77^{aAB}	10,25±0,52^{aB}	9,90±0,25^{aAB}	9,95±0,43^{aAB}	8,11±0,62^{aA}
	CMP-12d-1Hz	12,28±0,26^{aC}	9,83±0,16^{aAB}	8,72±0,26^{aA}	10,42±0,47^{aB}	9,42±0,52^{aAB}	9,51±0,39^{aAB}	8,67±0,59^{aA}
b*	Controle	13,54±0,61^{aA}	13,00±0,41^{aA}	12,67±0,60^{aA}	12,52±0,37^{aA}	12,94±0,47^{aA}	12,47±0,51^{aA}	12,46±0,18^{aA}
	CMP-2h-1Hz	13,54±0,61^{aA}	13,38±0,48^{aA}	12,16±0,65^{aA}	12,58±0,42^{aA}	12,10±0,28^{aA}	12,23±0,53^{aA}	12,11±0,50^{aA}
	CMP-12d-1Hz	13,54±0,61^{aA}	11,36±0,01^{aA}	11,25±0,14^{aA}	12,29±0,67^{aA}	11,80±0,48^{aA}	11,80±0,44^{aA}	12,64±0,33^{aA}

Valores médios ± erro padrão (n=5). L*: luminosidade; a*: teor de vermelho; b*: teor de amarelo. Médias com letra minúscula igual na mesma coluna, dentro do mesmo parâmetro de cor, não apresentam diferença significativa (P<0,05). Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (P<0,05).

Os tratamentos com CMP não produziram efeitos significativos nos parâmetros de cor L* e b*. Estes parâmetros mantiveram-se estatisticamente constantes durante os 12 dias de armazenamento refrigerado e não houve, em nenhum período específico, diferença significativa entre os tratamentos.

Carlez, Veciana-Nogues e Cheftel (1995) verificaram aumento do valor de L* de 30-35 para 40-45 em amostras de carne moída após tratamento com alta pressão entre 350 a 500 MPa, enquanto que os valores de b* mantiveram-se constantes nas amostras pressurizadas com relação ao controle. Resultados similares foram obtidos por Fernández et al. (2007), que também observaram aumento na luminosidade (L*) em bifes de carne bovina, tratados com pressão de 650 MPa, de 26,4 para 46,7, porém ao contrário do estudo anterior, observaram aumento nos valores de b* de 6,3 para 11,2.

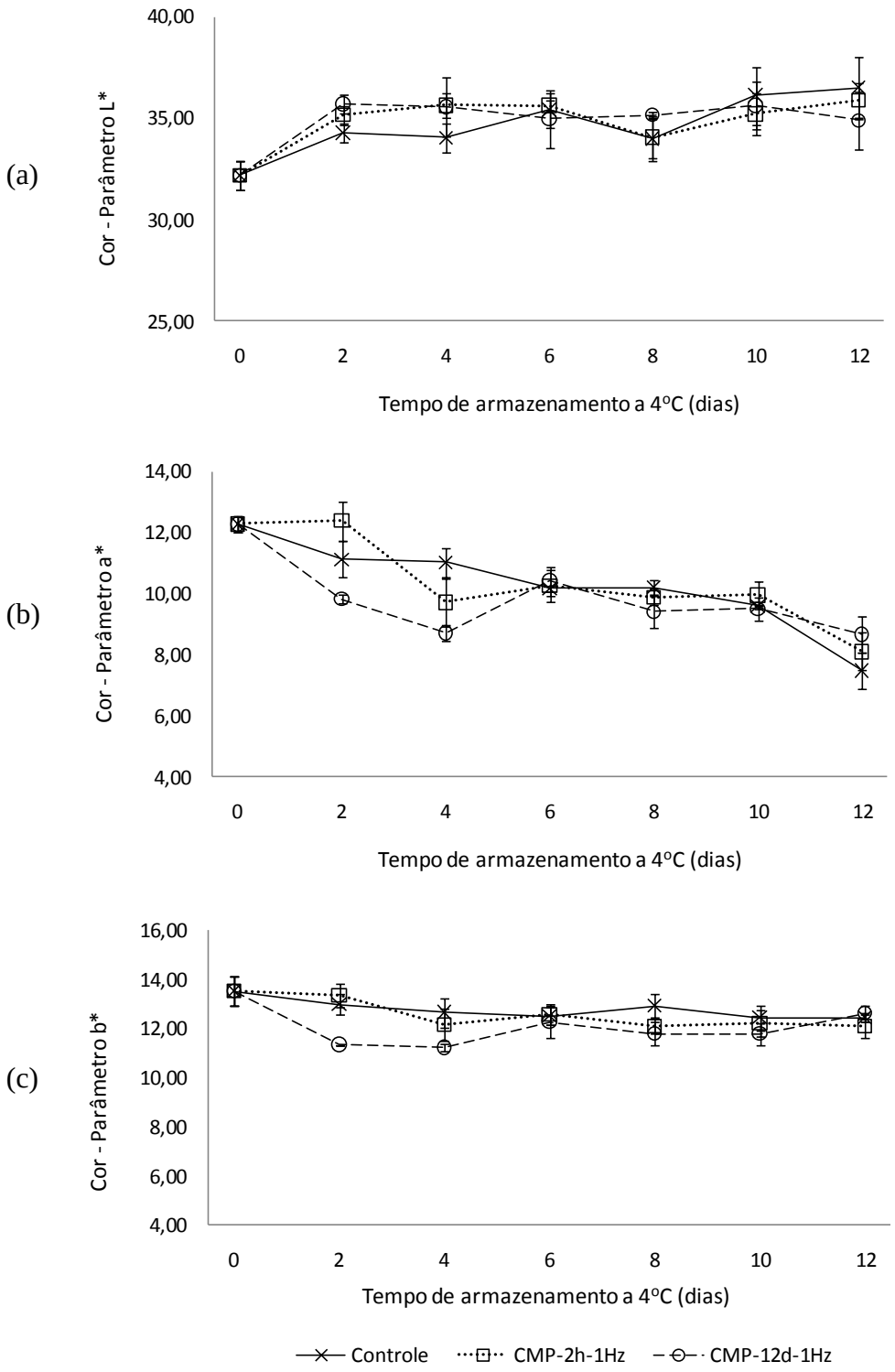


Figura 16 – Cor das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante período de armazenamento a 4°C. (a) Luminosidade (parâmetro L*); (b) Teor de vermelho (parâmetro a*); (c) Teor de amarelo (parâmetro b*).

Valores médios com barras verticais representando o erro padrão (n=5).

Já o parâmetro a*, que é o mais relevante no que diz respeito à cor da carne, reduziu significativamente, no presente estudo, tanto nas amostras controle como nas amostras tratadas, no decorrer do período de armazenamento refrigerado. A redução no teor de vermelho das amostras controle ocorreu a partir do 6º dia de armazenamento com relação ao valor inicial, enquanto que nas amostras dos tratamentos CMP-2h-1Hz e CMP-12d-1Hz a redução ocorreu a partir do 4º e 2º dia de armazenamento, respectivamente. Em geral, a partir do 6º dia, os valores mantiveram-se estatisticamente constantes até uma nova redução no 12º dia. O CMP acelerou a perda de coloração vermelha das amostras nos primeiros dias. No entanto, diferenças no parâmetro a* entre os tratamentos não foram significativas em nenhum tempo específico de armazenamento.

A diminuição do teor de vermelho (a*) das amostras com o tempo já era esperada, diante das condições de embalagem e armazenamento utilizadas no presente estudo, uma vez que a presença de oxigênio favorece a oxidação da oximioglobina em metamioglobina (MANCINI; HUNT, 2005).

Pereira (2002) analisou parâmetros de cor de corte interno de peixinho de bovinos da raça Nelore com idade média de 30 meses. Durante a desossa das carcaças, os valores obtidos para o parâmetro a* foram em média 14,97. Estes valores encontram-se um pouco maiores que os obtidos no presente estudo, pois ocorrem variações em função da idade dos animais e raça, sendo que à medida que aumenta a idade do animal, maior a concentração de mioglobina nos músculos e, portanto, mais escura é a carne (FELÍCIO, 1997). Pereira (2002) não observou alterações no parâmetro a* dos músculos durante armazenamento de 0 a 1ºC em embalagem a vácuo por 21 dias.

Fernández et al. (2007) verificaram que o processamento a alta pressão afeta o teor de vermelho (a*) em bifes bovinos, reduzindo seu valor para 5,2 em comparação com o controle (8,9), após tratamento à pressão de 650 MPa por 10 minutos. Resultados similares foram obtidos por Carlez, Veciana-Nogues e Cheftel (1995) a partir de pressões de 400 MPa por 10 minutos em carne moída bovina embaladas com ar ou oxigênio. Nas amostras embaladas a vácuo e na presença de absorvedores de oxigênio, os valores de a* permaneceram constantes independentemente da pressão aplicada.

Carlez, Veciana-Nogues e Cheftel (1995) avaliaram também o efeito do armazenamento refrigerado a 5ºC por 12 dias, após processamento a alta pressão a 350 ou 500 MPa, sobre a cor de carne moída embalada em atmosfera de oxigênio, e observaram que o processo a 500 MPa causa uma modificação imediata e estável da mioglobina, ou seja, logo no início do armazenamento ocorre uma redução significativa no teor de vermelho (a*) com

relação ao controle, de aproximadamente 13 para 6, que mantém-se estável até o final do armazenamento. Já o processamento a 350 MPa causou apenas uma modificação parcial, reduzindo o valor de a* progressivamente durante o armazenamento a 5°C de aproximadamente 12 para 6.

Amostras de carne bovina moída irradiadas com raios gama a 5 ou 10 kGy foram analisadas por Sohn et al. (2009), que observaram redução do parâmetro a* durante 7 dias de armazenamento refrigerado a 4°C, independente da dose de irradiação recebida, e observaram também que a adição de antioxidantes, como o α-tocoferol, nestes casos não alterou os valores de a*.

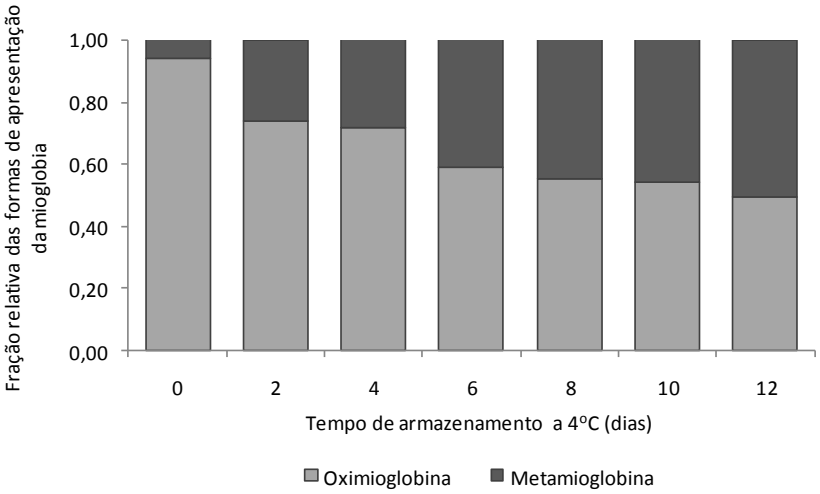
Por outro lado, em estudo realizado por Sørheim, Nissen e Nesbakken (1999), verificou-se que carne moída embalada em atmosfera modificada (0,4% CO/ 60% CO_2/ 40% N_2) possui maior estabilidade da cor vermelho brilhante, devido aos altos valores de a* observados, em comparação com carne moída em embalagens com alta concentração de oxigênio (70% O_2/ 30% CO_2). Os autores constataram também que o armazenamento a 8°C deteriora mais rapidamente a cor da carne do que a 4°C em altas concentrações de oxigênio.

5.2.2.3 Mioglobina

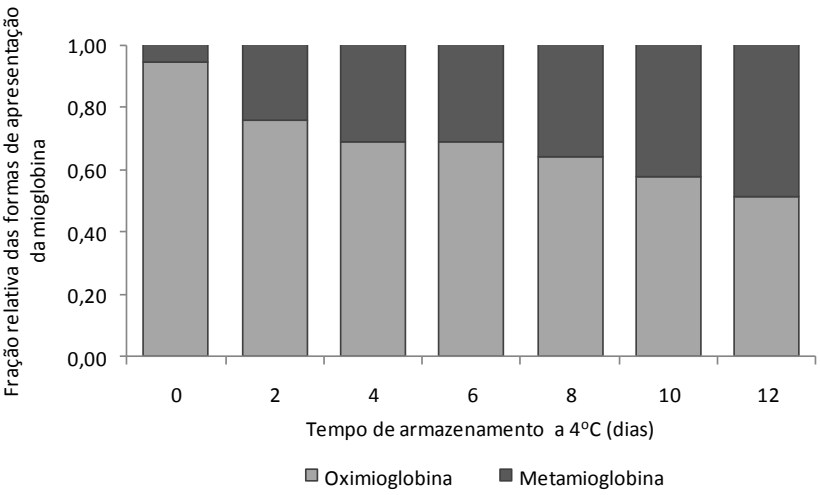
Os resultados de conteúdo relativo das formas de apresentação da mioglobina das amostras de carne moída controle e tratadas com CMP, de acordo com nomenclatura definida na Tabela 2, durante os 12 dias de armazenamento refrigerado estão apresentados na Figura 17. Conforme já verificado, o conteúdo relativo de desoximioglobina apresentou valores iguais ou muito próximos de zero em todos os períodos de armazenamento, para todos os tratamentos, devido à oxigenação da mioglobina no processo de moagem em contato com o oxigênio atmosférico. Desta forma, durante todo o armazenamento refrigerado, apenas as formas oximioglobina e metamioglobina foram observadas nas amostras de carne moída.

De acordo com a Figura 17, ocorreu redução na proporção de oximioglobina e aumento na proporção de metamioglobina em todas as amostras durante o período de armazenamento refrigerado, comportamento esperado no armazenamento aeróbio de carne moída (MANCINI; HUNT, 2005).

(a)



(b)



(c)

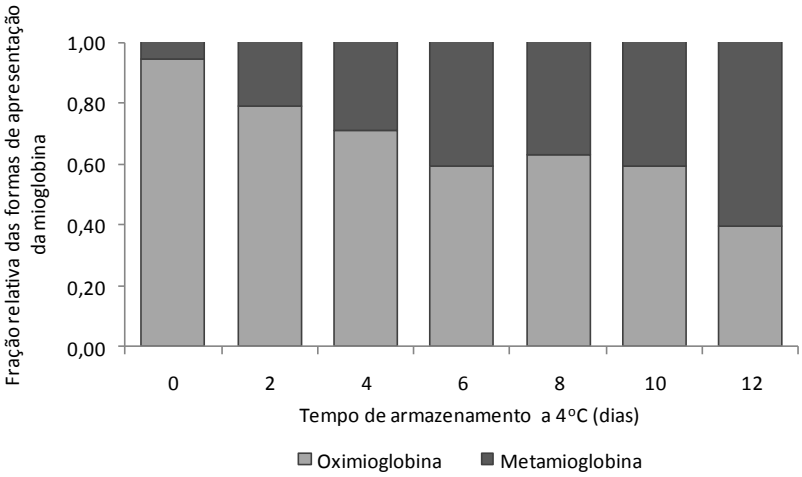
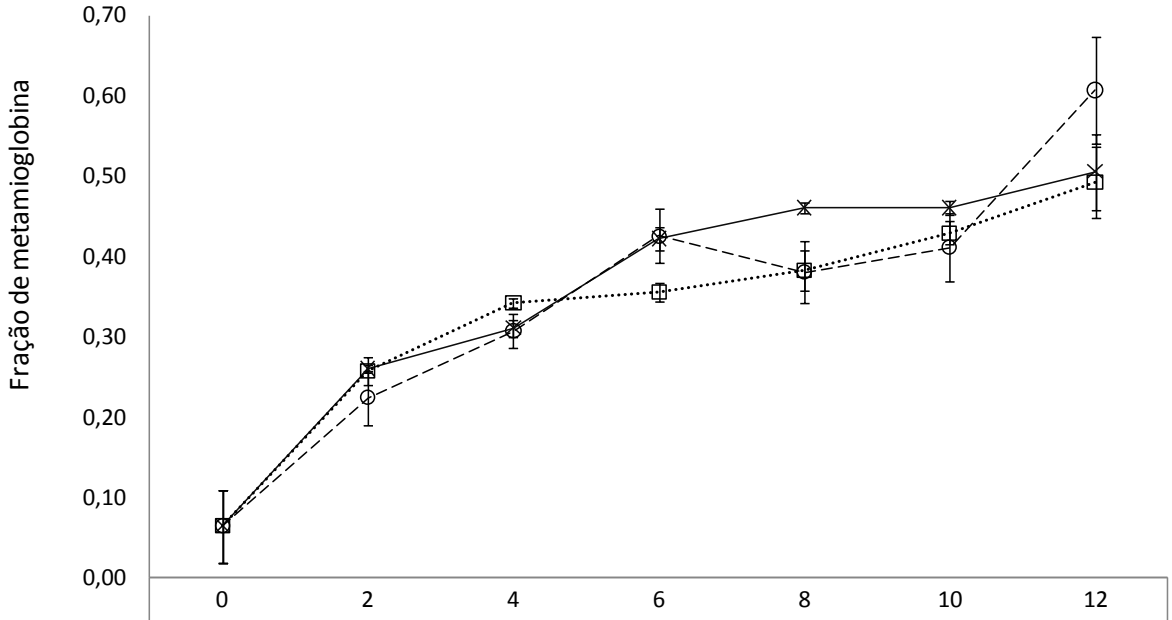


Figura 17 – Fração relativa das formas de apresentação da mioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, durante período de armazenamento a 4ºC. (a) Controle; (b) CMP-2h-1Hz; (c) CMP-12d-1Hz.

As frações de metamioglobina durante o período de armazenamento refrigerado das amostras controle e tratadas com CMP estão apresentadas na Figura 18. Os dados do dia 0 são extremamente baixos uma vez que são relativos às amostras logo após sua moagem, nas quais o teor de oximioglobina é bastante elevado e praticamente ainda não ocorreu formação de metamioglobina. Em todos os tratamentos, assim como no controle, houve aumento significativo nos valores de metamioglobina durante o período de armazenamento refrigerado das amostras. Considerando-se os dados a partir do 2º dia de armazenamento, o aumento significativo na metamioglobina ocorreu no 6º dia, mantendo-se constante até um novo aumento no final do período de armazenamento, em todos os casos.



	0	2	4	6	8	10	12
Controle	0,06±0,05^{aA}	0,26±0,01^{aB}	0,31±0,01^{aB}	0,42±0,01^{bC}	0,46±0,01^{bCD}	0,46±0,01^{aCD}	0,51±0,05^{aD}
CMP-2h-1Hz	0,06±0,05^{aA}	0,26±0,02^{aB}	0,34±0,01^{aBC}	0,36±0,01^{aC}	0,38±0,02^{aC}	0,43±0,01^{aCD}	0,49±0,04^{aD}
CMP-12d-1Hz	0,06±0,05^{aA}	0,22±0,03^{aB}	0,31±0,02^{aBC}	0,43±0,03^{bC}	0,38±0,04^{aC}	0,41±0,04^{aC}	0,61±0,07^{aD}

Figura 18 – Fração de metamioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante período de armazenamento a 4ºC.
Valores médios ± erro padrão (n=7 para Controle e CMP-2h-1Hz; n=4 para CMP-12d-1Hz). Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa (P<0,05). Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (P<0,05).

O aumento do conteúdo de metamioglobina durante o tempo de armazenamento refrigerado era esperado e é coerente com a diminuição no teor de vermelho (a*) obtida nas amostras de carne moída armazenadas a 4ºC. À medida que aumenta a quantidade de

metamioglobina, aumenta a coloração amarronzada da carne e consequentemente, reduz a cor vermelho-brilhante da mesma (VENTURINI; CONTRERAS-CASTILLO; FARIA, 2009).

A Figura 19 ilustra a correlação negativa existente entre os valores de a* e a fração de metamioglobina que variam em sentidos contrários, ou seja, nas condições do presente estudo, quando aumenta a fração de metamioglobina, reduz os valores de a* das amostras e vice-versa. Os coeficientes de correlação obtidos foram -0,86, -0,87 e -0,74, para o grupo controle, CMP-2h-1Hz e CMP-12d-1Hz, respectivamente. Observa-se, então que o controle e o tratamento CMP-2h-1Hz obtiveram maior correlação entre estes fatores.

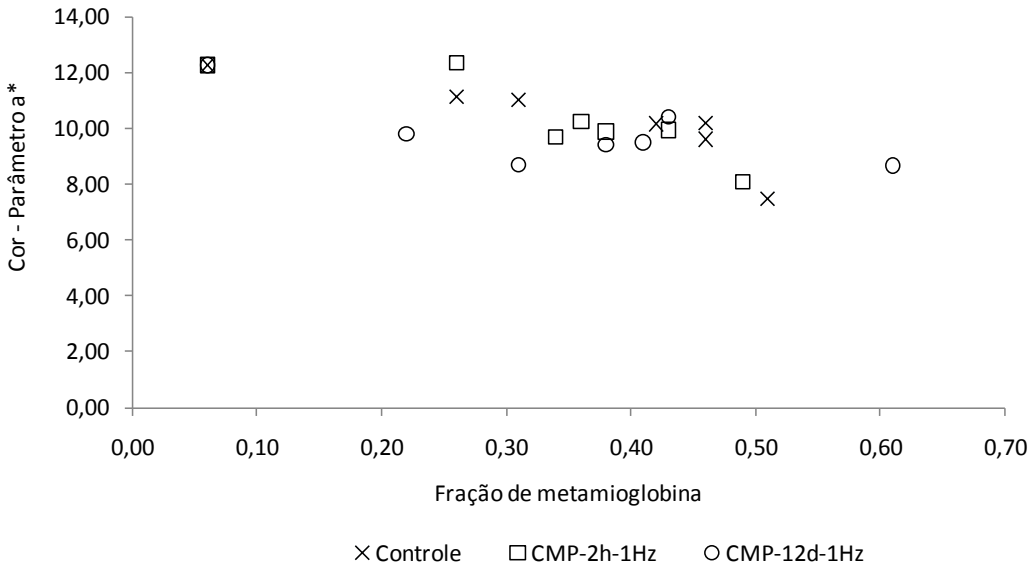


Figura 19 – Correlação negativa entre o parâmetro a* de cor instrumental e fração de metamioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP.

No 6º dia de armazenamento refrigerado, de acordo com a Figura 18, as amostras de carne moída referentes ao tratamento CMP-2h-1Hz apresentaram uma fração média de metamioglobina 14% menor com relação às amostras controle do mesmo dia. Já no 8º dia, os tratamentos CMP-2h-1Hz e CMP-12d-1Hz tiveram valores 17% menores que o controle. Nos demais tempos de armazenamento refrigerado não houve diferença significativa nos teores de metamioglobina das amostras tratadas com campo magnético em relação às amostras controle.

Os resultados indicam que há um efeito do CMP sobre a quantidade de metamioglobina, resultando em alguns momentos, em menor formação da mesma e, consequentemente, melhor qualidade visual. A exposição ao CMP de 1 Hz por 2 horas foi

mais efetiva na manutenção da coloração da carne do que a exposição contínua durante os 12 dias de armazenamento.

A redução na formação de metamioglobina das amostras de carne moída expostas por 2 horas a CMP de 1 Hz de frequência, observado nas duas etapas do presente estudo, pode estar relacionado com a presença do grupo heme em sua estrutura, uma vez que Portaccio et al. (2005) e Yoshihara et al. (2009) observaram efeito de campos magnéticos sobre a atividade catalítica de peroxidase de raiz forte, enzima cujo sítio ativo possui um grupamento heme. Desta forma, o CMP pode ter atuado nas mudanças de estado oxidativo do átomo de ferro do grupo heme, diminuindo a taxa de oxidação do Fe^{2+} para o Fe^{3+}, ou seja a conversão de oximioglobina a metamioglobina.

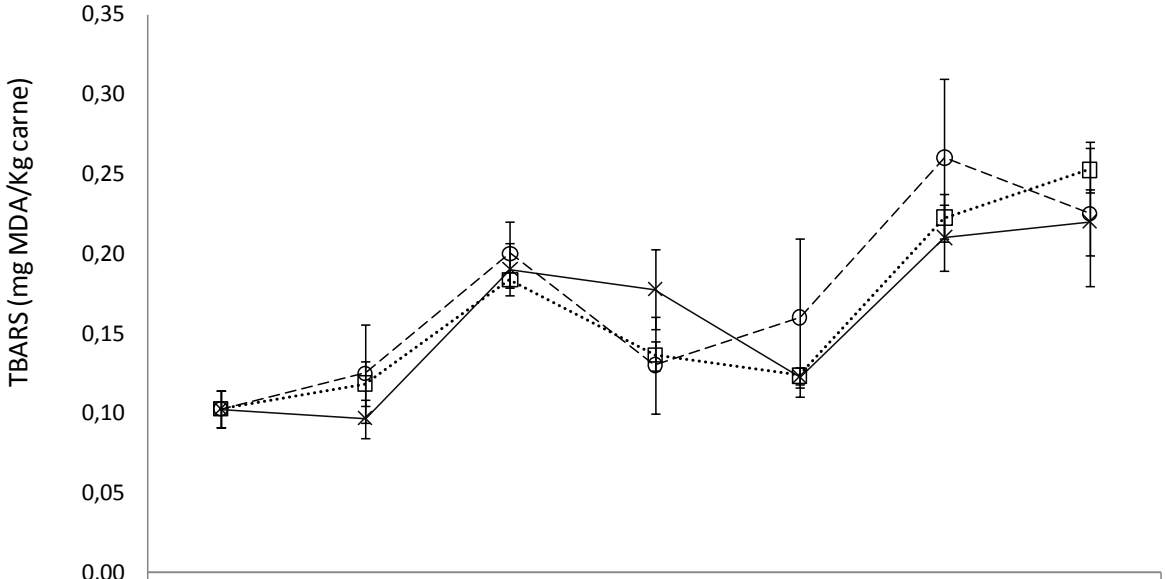
Carlez, Veciana-Nogues e Cheftel (1995) avaliaram o efeito do processamento a alta pressão por 10 minutos, a 10°C, no conteúdo de metamioglobina em carne moída fresca embalada em atmosfera de oxigênio ou de ar atmosférico, e observaram que em pressões a partir de 400 MPa a proporção de metamioglobina aumenta consideravelmente, tornando a cor da carne mais escura. Logo após processamento a 500 MPa, as proporções de metamioglobina das amostras embaladas em atmosfera de oxigênio e de ar atmosférico foram de 0,49 e 0,55, respectivamente. Estes resultados correspondem aos valores obtidos no presente estudo para as amostras já armazenadas por 12 dias sob refrigeração, o que evidencia que o tratamento com alta pressão tem grande influência sobre as características de cor em carnes frescas, e por isto, os autores Carlez, Veciana-Nogues e Cheftel (1995) sugerem sua aplicação em conjunto com o congelamento convencional.

5.2.2.4 Oxidação lipídica

A avaliação da oxidação lipídica por meio da quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) durante o período de armazenamento refrigerado das amostras controle e tratadas com CMP estão apresentadas na Figura 20.

Durante o período de armazenamento refrigerado, os valores de TBARS das amostras de carne moída controle e expostas ao CMP por 2 horas a 1Hz apresentaram um perfil semelhante. Inicialmente houve aumento significativo dos valores no 4º dia, seguido de uma

redução no 6º dia, para o CMP-2h-1Hz, e no 8º dia, para o controle, com um posterior aumento a partir do 10º dia para ambos. No caso do tratamento CMP-12d-1Hz, até o 8º dia os valores de TBARS mantiveram-se estatisticamente constantes, ocorrendo aumento significativo a partir do 10º dia.



	0	2	4	6	8	10	12
Controle	0,10±0,01^{aA}	0,10±0,01^{aA}	0,19±0,02^{aB}	0,18±0,02^{aB}	0,12±0,01^{aA}	0,21±0,02^{aB}	0,22±0,02^{aB}
CMP-2h-1Hz	0,10±0,01^{aA}	0,12±0,01^{aA}	0,18±0,01^{aB}	0,14±0,01^{aA}	0,12±0,01^{aA}	0,22±0,01^{aC}	0,25±0,01^{aC}
CMP-12d-1Hz	0,10±0,01^{aA}	0,13±0,03^{aAB}	0,20±0,02^{aABC}	0,13±0,03^{aAB}	0,16±0,05^{aABC}	0,26±0,05^{aC}	0,23±0,05^{aBC}

Figura 20 – Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP, durante período de armazenamento a 4ºC.
Valores médios ± erro padrão (n=6 para Controle e CMP-2h-1Hz; n=4 para CMP-12d-1Hz). Médias com a mesma letra minúscula (a) na mesma coluna não apresentam diferença significativa (P<0,05). Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (P<0,05).

Em nenhum tempo específico de armazenamento refrigerado houve diferença significativa entre os valores de TBARS dos tratamentos, indicando que, nas condições do presente estudo, não há efeito do CMP sobre a oxidação lipídica das amostras de carne bovina moída fresca, independente do tempo de exposição ao CMP.

Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com valores de TBARS, de aproximadamente 0,13 mg MDA/kg de carne, observados por Kim et al. (2010) em bifes bovinos embalados em atmosfera modificada com 80% de O_2 e 20% de CO_2 após 1 dia de armazenamento a 3ºC. Após 9 dias de armazenamento, foi observado um aumento considerável de aproximadamente 10 vezes nos valores de TBARS, devido ao alto teor de oxigênio das embalagens, o que ocorreu em menores proporções no presente estudo, uma vez

que as amostras estavam embaladas com ar atmosférico. Os autores também avaliaram bifes embalados a vácuo e não obtiveram alterações nos valores de TBARS durante os 9 dias de armazenamento refrigerado.

Sohn et al. (2009) observaram que à medida que aumenta o tempo de armazenamento refrigerado a 4°C de amostras de carne bovina moída irradiadas com raios gama a 5 ou 10 kGy, maiores valores de TBARS são encontrados em comparação às amostras não irradiadas. Os autores também indicaram que a adição de antioxidante, assim como o α-tocoferol pode retardar a oxidação lipídica de carne bovina moída irradiada durante a estocagem refrigerada.

Os valores de TBARS apresentaram correlação positiva com a fração de metamioglobina das amostras, de acordo com a Figura 21, ou seja, nas condições do presente estudo, quando aumenta a fração de metamioglobina, aumentam, em média, os valores de TBARS das amostras e vice-versa. Os coeficientes de correlação obtidos foram 0,69, 0,78 e 0,68, para o grupo controle, CMP-2h-1Hz e CMP-12d-1Hz, respectivamente. Observou-se, então, que o tratamento CMP-2h-1Hz obteve maior correlação entre estes fatores.

Kim et al. (2010) também observaram relação entre as reações de oxidação de lipídios e de mioglobina em bifes bovinos embalados com alto teor de oxigênio ou a vácuo. Em revisão realizada por Faustman et al. (2010), as interações entre a oxidação de mioglobina e lipídica em carnes, são evidenciadas por estudos de oxidação concomitante destes dois compostos durante um certo período de tempo, e por estudos que, ao utilizar antioxidantes, inibem a oxidação lipídica e também a descoloração em carnes.

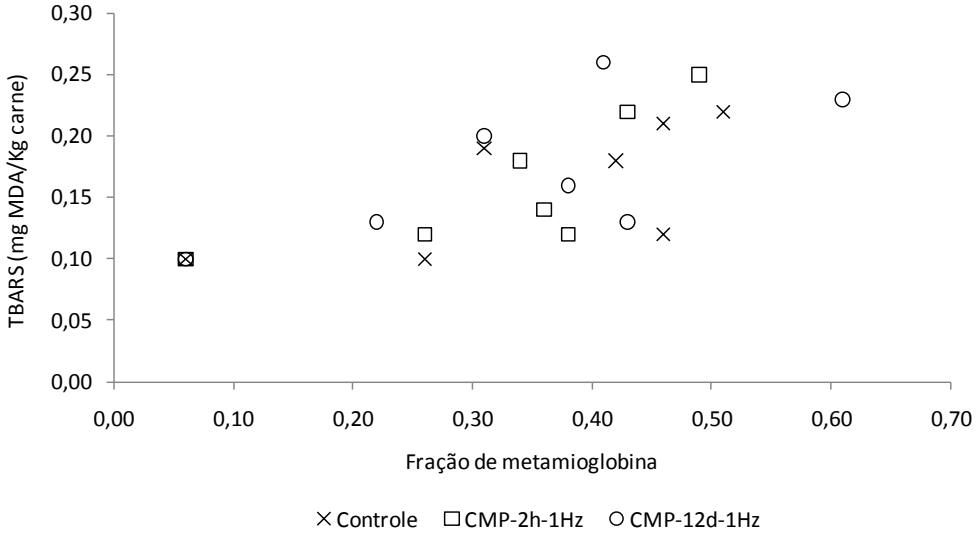


Figura 21 – Correlação positiva entre valores de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e fração de metamioglobina das amostras de carne bovina moída fresca, em função do tratamento com CMP.

Em geral outros métodos estudados de conservação de carnes frescas como radiação ionizante e alta pressão hidrostática, embora bastante efetivos na inativação de micro-organismos, provocam alterações sensoriais pronunciadas, conforme revisado por Aymerich, Picouet e Monfort (2008), o que não foi verificado no caso do presente estudo com campo magnético pulsado. No caso da irradiação, no qual ocorre a formação de radicais livres (BREWER, 2004; BREWER, 2009), as alterações indesejáveis, em geral, podem ser reduzidas pela adição de antioxidantes (LACROIX et al., 2004). Ao contrário, a aplicação de campo magnético pulsado parece não gerar espécies reativas, uma vez que não alterou negativamente características da carne moída, como formação de metamioglobina e de MDA, e desta forma sugere-se que sua utilização não precisa ser combinada com a adição de antioxidantes.

Em suma, o presente trabalho demonstrou a possível aplicabilidade de CMP na preservação de carne bovina moída, mais especificamente em termos dos seguintes resultados:

a) A variação na frequência de pulso do CMP de 1, 30 ou 60 Hz não afetou os parâmetros de pH e fração de metamioglobina de carne bovina moída durante 6 dias de armazenamento refrigerado;

b) A variação no tempo de exposição, de 2 horas ou 12 dias, ao CMP de 1 Hz teve efeito sobre a qualidade microbiológica, em termos de micro-organismos mesófilos aeróbios, e sobre a formação de metamioglobina de carne bovina moída, sendo que a exposição por 2 horas reduziu mais pronunciadamente a contagem total de mesófilos durante 12 dias de armazenamento refrigerado e, em alguns momentos, a velocidade de formação da metamioglobina. A variação no tempo de exposição ao CMP não teve efeito sobre os parâmetros de pH, cor e estabilidade oxidativa dos lipídios de carne bovina moída.

6 CONCLUSÕES

Conclui-se que campo magnético pulsado de baixa intensidade (ordem de mili Tesla) melhora a qualidade microbiológica, em termos de micro-organismos mesófilos aeróbios, e reduz a velocidade de formação da metamioglobina de carne bovina moída durante armazenamento aeróbio refrigerado, sem provocar alterações indesejáveis no pH, cor e estabilidade oxidativa dos lipídios. Dentre as condições estudadas, a exposição por 2 horas ao CMP de 1 Hz (10-25 mT) é a mais efetiva na preservação da carne moída.

A utilização de campo magnético pulsado apresenta potencial para ser utilizado como tecnologia inovadora, em combinação com a refrigeração, na preservação de carnes frescas sem provocar alterações sensoriais indesejáveis. Todavia, mais estudos precisam ser realizados para entendimento dos mecanismos de ação do campo magnético.

REFERÊNCIAS

ABERLE, E.D. et al. **Principles of Meat Science**. 4.ed. Dubuque, Iowa: Kendall/Hunt Publishing Company, 2001.

AHMED, J.; RAMASWAMY, H.S. Applications of magnetic field in food preservation. In: RAHMAN, M.S. (Ed.) **Handbook of Food Preservation**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. Cap.35, p.855-866.

AL-BACHIR, M.; MEHIO, A. Irradiated luncheon meat: microbiological, chemical and sensory characteristics during storage. **Food Chemistry**, Oxon, v.75, p.169-175, 2001.

ANTIC, D. et al. Distribution of microflora on cattle hides and its transmission to meat via direct contact. **Food Control**, Oxon, v.21, p.1025-1029, 2010.

AYMERICH, T.; PICOUET, P.A.; MONFORT, J.M. Decontamination technologies for meat products. **Meat Science**, Oxon, v.78, p.114-129, 2008.

BABJI, Y.; MURTHY, T.R.K. Effect of inoculation of mesophilic lactic acid bacteria on microbial and sensory changes of minced goat meat during storage under vacuum and subsequent aerobic storage. **Meat Science**, Oxon, v.54, p.197-202, 2000.

BADR, H.M. Use of irradiation to control food borne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. **Meat Science**, Oxon, v.67, p.541-548, 2004.

BALASUBRAMANIAM, V.M.; FARKAS, D. High-pressure food processing. **Food Science and Technology International**, London, v.14, p.413-418, 2008.

BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. et al. Oscillating magnetic fields. **Journal of Food Safety**, Malden, v.65, suppl.8, p.86-89, 2000.

BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; GÓNGORA-NIETO, M.M.; SWANSON, B.G. Nonthermal electrical methods in food preservation. **Food Science and Technology International**, London, v.4, p.363-370, 1998.

BARROS, M.A.F. et al. *Listeria monocytogenes*: Occurrence in beef and identification of the main contamination points in processing plants. **Meat Science**, Oxon, v.76, p.591-596, 2007.

BEHRENS, J.H. et al. Brazilian consumer views on food irradiation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.10, p.383-389, 2009.

BORCH, E.; ARINDER, P. Bacteriological safety issues in red meat and ready-to-eat meat products, as well as control measures. **Meat Science**, Oxon, v.62, p.381-390, 2002.

BORCH, E.; KANT-MUERMANS, M-L.; BLIXT, Y. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.33, p.103-120, 1996.

BRASIL. Instrução Normativa SDA/MAPA n.62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 set. 2003a. Seção 1, p.14.

BRASIL. Instrução Normativa SDA/MAPA n.83, de 21 de novembro de 2003. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne bovina em conserva (*corned beef*) e carne moída de bovino. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 nov. 2003b. Seção 1, p.29-30.

BREWER, M.S. Irradiation effects on meat flavor: a review. **Meat Science**, Oxon, v.81, p.1-14, 2009.

BREWER, S. Irradiation effects on meat color – a review. **Meat Science**, Oxon, v.68, p.1-17, 2004.

BUCHACHENKO, A.L.; KUZNETSOV, D.A. Magnetic field affects enzymatic ATP synthesis. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v.130, p.12868-12869, 2008.

CALKINS, C.R.; HODGEN, J.M. A fresh look at meat flavor. **Meat Science**, Oxon, v.77, p.63-80, 2007.

CAMPO, M.M. et al. Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**, Oxon, v.72, p.303-311, 2006.

CARLEZ, A.; VECIANA-NOGUES, T.; CHEFTEL, J.C. Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. **LWT – Food Science and Technology**, v.28, p.528-538, 1995.

CARPENTER, C.E.; CORNFORTH, D.P.; WHITTIER, D. Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. **Meat Science**, Oxon, v.57, p.359-363, 2001.

CARVALHO FILHO, D.U. et al. Temperatura e pH de carcaças de bovinos abatidos sob inspeção municipal em Teresina, Piauí. **Revista Científica de Produção Animal**, v.7, p.60-66, 2005.

CHEAH, P.B.; LEDWARD, D.A. Inhibition of metmyoglobin formation in fresh beef by pressure treatment. **Meat Science**, Oxon, v.45, p.411-418, 1997.

CHEFTEL, J.C.; CULIOLI, J. Effects of high pressure on meat: a review. **Meat Science**, Oxon, v.46, p.211-236, 1997.

CHEN, S-T.; STEVENS, D.K.; KANG, G. Pentachlorophenol and crystal violet degradation in water and soils using heme and hydrogen peroxide. **Water Research**, Oxford, v.33, n.17, p.3657-3665, 1999.

CHEN, Y.J. et al. Effect of low dose gamma irradiation on beef quality and fatty acid composition of beef intramuscular lipid. **Meat Science**, Oxon, v.75, p.423-431, 2007.

CHEVALIER, D.; LE BAIL, A.; GHOUL, M. Effects of high pressure treatment (100-200 MPa) at low temperature on turbot (*Scophthalmus maximus*) muscle. **Food Research International**, Amsterdam, v.34, p.425-429, 2001.

COUSIN, M.A.; JAY, J.M.; VASAVADA, P.C. Psychrotrophic microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. Cap.13, p.159-166.

DAVIES, E. et al. A weak pulsed magnetic field affects adenine nucleotide oscillations, and related parameters in aggregating Dictyostelium discoideum amoebae. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v.48, p.149-162, 1999.

DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Food Safety and Inspection Service. Irradiation of meat food products. **Federal Register**, v.64, n.246, p.72150-72166, 1999. Disponível em: < http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/97-076F.pdf>. Acesso em: 27 maio 2011.

DINÇER, A.H.; BAYSAL, T. Decontamination techniques of pathogen bacteria in meat and poultry. **Critical Reviews in Microbiology**, New York, v.30, p.197-204, 2004.

ESMER, O.K. et al. The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat. **Meat Science**, Oxon, v.88, p.221-226, 2011.

FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food: A review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.44, p.189-204, 1998.

FAUSTMAN, C. et al. Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. **Meat Science**, Oxon, v.86, p.86-94, 2010.

FEIJÓ, G.L.D. (Coord.). **Curso conhecendo a carne que você consome**, 1. Qualidade da carne bovina. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1999.

FEIJÓ, G.L.D. **Padronização dos cortes de carne bovina.** Embrapa Gado de Corte. Disponível em <http://www.cnpgc.embrapa.br/publicacoes/naoseriadas/cortes>. Acesso em: 12 abril 2011.

FELÍCIO, P.E. Fatores que influenciam na qualidade da carne bovina. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; DE FARIA, V.P. (Org.). **Produção de novilho de corte**. 1.ed. Piracicaba: FEALQ, 1997. p.79-97.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos:** princípios e prática. Tradução de Florencia Cladera Oliveira et al. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FERNÁNDEZ, P.P. et al. Conventional freezing plus high pressure-low temperature treatment: physical properties, microbial quality and storage stability of beef meat. **Meat Science**, Oxon, v.77, p.616-625, 2007.

FERRARI, C.K.B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. **Revista de Nutrição**, v.11, n.1, p.3-14, 1998.

FOJT, L. et al. Comparison of the low-frequency magnetic field effects on bacteria *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxylata* and *Staphylococcus aureus*. **Bioelectrochemistry**, Lausanne, v.63, p.337-341, 2004.

GAMAGE, S.D. et al. Inhibition of microbial growth in chub-packed ground beef by refrigeration (2^oC) and medium-dose (2.2 to 2.4 kGy) irradiation. International **Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.37, p.175-182, 1997.

GARRIGA, M. et al. Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.5, p.451-457, 2004.

GERSTMAN, B.; AUSTIN, R.H. Investigation of spin tunneling in carbon monoxide recombination with β hemoglobin. **Physical Review Letters**, v.47, n.22, p.1636-1639, 1981.

GOODMAN, E.M. et al. Pulsed magnetic fields alter the cell surface. **Federation of European Biochemical Societies**, v.199, p.275-278, 1986.

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

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine.** 4th.ed. Oxford: Oxford University Press, 2007.

HARTE, F. et al. Potential use of 18 tesla static and pulsed magnetic fields on *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Food Processing Preservation**, v.25, p.223-235, 2001.

HEREDIA, N.et al. Microbiological condition of ground meat retailed in Monterrey, Mexico. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.64, p.1249-1251, 2001.

HUGAS, M.; GARRIGA, M.; MONFORT, J.M. New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. **Meat Science**, Oxon, v.62, p.359-371, 2002.

HUNT, M.C.; HEDRICK, H.B. Profile of fiber types and related properties of five bovine muscles. **Journal of Food Science**, Malden, v.42, p.513-517, 1977.

IMMONEM, K. et al. Bovine muscle glycogen concentration in relation to finishing diet, slaughter and ultimate pH. **Meat Science**, Oxon, v.55, p.25-31, 2000.

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

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos.** Tradução de Eduardo Cesar Tondo et al. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JEREMIAH, L.E.; GIBSON, L.L. The influence of storage temperature and storage time on color stability, retail properties and case-life of retail-ready beef. **Food Research International**, Amsterdam, v.34, p.815-826, 2001.

JOFRÉ, A. et al. Efficiency of high hydrostatic pressure at 600 MPa against food-borne microorganismsby challenge tests on convenience meat products. **LWT – Food Science and Technology**, v.42, p.924-928, 2009.

JUNG, S.; GHOUL, M.; DE LAMBALLERIE-ANTON, M. Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. **LWT – Food Science and Technology**, v.36, p.625-631, 2003.

JUNG, S.; DE LAMBALLERIE-ANTON, M.; GHOUL, M. Modifications of ultrastructure and myofibrillar proteins of *post-rigor* beef treated by high pressure. **LWT – Food Science and Technology**, v.33, p.313-319, 2000.

KIM, Y.H. et al. High-oxygen modified atmosphere packaging system induces lipid and myoglobin oxidation and protein polymerization. **Meat Science**, Oxon, v.85, p.759-767, 2010.

KRZYWICKI, K. Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. **Meat Science**, Oxon, v.3, p.1-10, 1979.

LACROIX, M. et al. Effect of gamma irradiation in presence of ascorbic acid on microbial composition and TBARS concentration of ground beef coated with an edible active coating. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.71, p.71-75, 2004.

LADIKOS, D.; LOUGOVOIS, V. Lipid oxidation in muscle foods: a review. **Food Chemistry**, Oxon, v.35, p.295-314, 1990.

LADO, B.H.; YOUSEF, A.E. Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. **Microbes and Infection**, Amterdam, v.4, p.433-440, 2002.

LAI, H.; SINGH, N.P. Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. **Environmental Health Perspectives**, v.112, p.687-694, 2004.

LAMBERT, A.D.; SMITH, J.P.; DODDS, K.L. Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat – a review. **Food Microbiology**, London, v.8, n.4, p.267-297, 1991.

LAWRIE, R.A. **Ciência da carne**. Tradução de Jane Maria Rubensam. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LEE, G.Y. et al. Prevalence and classification of pathogenic Escherichia coli isolated from fresh beef, poultry and pork in Korea. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.134, p.196-200, 2009.

LIMBO, S. et al. Evaluation and predictive modeling of shelf life of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures. **Meat Science**, Oxon, v.84, p.129-136, 2010.

LIN, C-T.J.; JENSEN, K.L.; YEN, S.T. Awareness of foodborne pathogens among US consumers. **Food Quality and Preference**, Oxon, v.16, p.401-412, 2005.

LIPIEC, J.; JANAS, P.; BARABASZ, W. Effect of oscillating magnetic field pulses on the survival of selected microorganisms. **International Agrophysics**, Lublin, v.18, p.325-328, 2004.

LUÑO, M.; BELTRÁN, J.A.; RONCALÉS, P. Shelf-life extension and colour stabilization of beef packaged in a low O_2 atmosphere containing CO: loin steaksa and ground meat. **Meat Science**, Oxon, v.48, p.75-84, 1998.

LUÑO, M. et al. Beef shelf life in low O_2 and high CO_2 atmospheres containing different low CO concentrations. **Meat Science**, Oxon, v.55, p.413-419, 2000.

MA, H.J. et al. Effects of high pressure/thermal treatment on lipid oxidation in beef and chicken muscle. **Food Chemistry**, Oxon, v.104, p.1575-1579, 2007.

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

MARCHI, P.G.F. **Estudo comparativo do estado de conservação de carne moída através de métodos microbiológicos e físico-químicos**. 2006. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

MAXWELL, J.C. **A treatise on electricity and magnetism**. Oxford: Clarendon Press, 1873.

MAXWELL LABORATORIES INC. Gunter A. Hofmann. **Deactivation of microorganisms by an oscillating magnetic field**. US Patent n. 4.524.079, 10 nov. 1983, 18 jun. 1985.

MCARDLE, R. et al. Monitoring the effects of high pressure processing and temperature on selected beef quality attributes. **Meat Science**, Oxon, v.86, p.629-634, 2010.

MCDONALD, K.; SUN, D-W. Predictive food microbiology for the meat industry: a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.52, p.1-27, 1999.

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

NOTTINGHAM, P.M. Microbiology of carcass meats. In: BROWN, M.H. (Ed.). **Meat microbiology**. London: Applied Science Publishers Ltd, 1982. Cap.2, p.13-65.

NOVÁK, J. et al. Effects of low-frequency magnetic fields on the viability of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Bioelectrochemistry**, Lausanne, v.70, p.115-121, 2007.

NUNES, P.E.Q. et al. Efeito do campo magnético pulsante sobre o escurecimento enzimático da banana. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 16., 2008, Piracicaba. **Resumos...** São Paulo: USP, 2008. CD-ROM. Disponível em: < http://www.usp.br/siicusp/Resumos/16Siicusp/index.htm>. Acesso em: 31 maio 2011.

OFFER, G. Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis. **Meat Science**, Oxon, v.30, p.157-184, 1991.

PARDI, M.C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2.ed. rev. e ampl. Goiânia: Editora da UFG, 2001. v.1.

PEREIRA, A.S.C. **Qualidade da carne de bovinos Nelore (*Bos taurus indicus*) suplementados com vitamina E**. 2002. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2002.

PORTACCIO, M. et al. Modulation of the catalytic activity of free and immobilized peroxidase by extremely low frequency electromagnetic fields: dependence on frequency. **Bioelectromagnetics**, Malden, v.26, p.145-152, 2005.

PORTO, E. Microbiologia de carnes. In: CASTILLO, C.J.C. (Ed.) **Qualidade da carne**. São Paulo: Varela, 2006. Cap.6, p.101-131.

POTHAKAMURY, U.R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; SWANSON, B.G. Magnetic-field inactivation of microorganisms and generation of biological changes. **Food Technology**, Chicago, v.47, p.85-93, 1993.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, n.4, p.755-760, 2006.

RAO, D.N.; RAMESH, B.S. Microbial profiles of minced meat. **Meat Science**, Oxon, v.23, p.279-291, 1988.

REITZ, J.R.; MILFORD, F.J.; CHRISTY, R.W. **Fundamentos da teoria eletromagnética**. Tradução de Renê Balduino. Rio de Janeiro: Elsevier, 1982.

RESCONI, V.C. et al. Sensory quality of beef from different finishing diets. **Meat Science**, Oxon, v.86, p.865-869, 2010.

RHEE, K.S. et al. Fatty acid profiles and lipid oxidation in beef steer muscles from different anatomical locations. **Meat Science**, Oxon, v.23, p.293-301, 1988.

ROBAZZA, W.S.; TELEKEN, J.T.; GOMES, G.A. Modelagem matemática do crescimento de microrganismos em alimentos. **Tendências em Matemática Aplicada e Computacional**, v.11, n.1, p.101-110, 2010.

RODGERS, C.T. Magnetic field effects in chemical systems. **Pure and Applied Chemistry**, v.81, p.19-43, 2009.

ROSA, A.F. **Estudo proteômico do efeito da atmosfera modificada na estabilidade da cor e na vida útil da carne suína acondicionada em embalagens de transporte tipo masterpack sob refrigeração**. 2009. 126 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

ROSCA, F. et al. Investigations of anharmonic low-frequency oscillations in heme proteins. **The Journal of Physical Chemistry A**, v.106, p.3540-3552, 2002.

SALAMINO, F. et al. Effect of extremely low frequency magnetic fields on calpain activation. **Bioelectromagnetics**, Malden, v.27, p.43-50, 2006.

SAN MARTÍN, M.F. et al. Inactivation effect of an 18-T pulsed magnetic field combined with other technologies on *Escherichia coli*. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.2, p.273-277, 2001.

SATIN, M. Use of irradiation for microbial decontamination of meat: situation and perspectives. **Meat Science**, Oxon, v.62, p.277-283, 2002.

SCHINDLER, S. et al. Aroma development in high pressure treated beef and chicken meat compared to raw and heat treated. **Meat Science**, Oxon, v.86, p.317-323, 2010.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 3.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SILVEIRA, T.J.D. et al. Tratamentos não térmicos: efeito do campo magnético sobre os microrganismos mesófilos do leite de cabra cru refrigerado. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 16., 2008, Piracicaba. **Resumos...** São Paulo: USP, 2008. CD-ROM. Disponível em: < http://www.usp.br/siicusp/Resumos/16Siicusp/index.htm>. Acesso em: 31 maio 2011.

SKANDAMIS, P.N.; NYCHAS, G-J.E. Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.79, p.35-45, 2002.

SKRÖKKI, A. Hygienic quality of commercial minced meat as indicated by aerobic micro-organisms and coliform bacteria. **Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung A**, v.204, p.391-394, 1997.

SOHN, S.H. et al. Reduction of irradiation off-odor and lipid oxidation in ground beef by α-tocopherol addition and the use of a charcoal pack. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.78, p.141-146, 2009.

SORDILLO, L.M.; AITKEN, S.L. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v.128, p.104-109, 2009.

SØRHEIM, O.; NISSEN, H.; NESBAKKEN, T. The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide. **Meat Science**, Oxon, v.52, n.2, p.157-164, 1999.

TANG, J.; FAUSTMAN, C.; HOAGLAND, T.A. Krzywicki Revisited: Equations for spectrophotometric determination of myoglobin redox forms in aqueous meat extratcts. **Journal of Food Science**, Malden, v.69, n.9, p.717-720, 2004.

TOMPKIN, R.B.; MCNAMARA, A.M.; ACUFF, G.R. Meat and poultry products. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. Cap.45, p.463-471.

TSUCHIYA, K. et al. Effect of homogeneous and inhomogeneous high magnetic fields on the growth of Escherichia coli. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v.81, p.343-346, 1996.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Meat and meat products**. Tecnhology, chemistry and microbiology. Food products series v.3. London: Chapman & Hall, 1995. Disponível em: <http://books.google.com.br/books>. Acesso em: 4 maio 2011.

VENTURINI, A.C.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; FARIA, J.A.F. Revisão: sistemas de embalagem para carne bovina fresca em atmosfera modificada. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.12, n.2, p.128-137, 2009.

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

VYNCKE, W. Evaluation of the direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus L.*). **Fatte Seifen Anstrichmittel**, v.77, p.239-240, 1975.

WARNER, R.D. et al. Genetic and environmental effects on meat quality. **Meat Science**, Oxon, v.86, p.171-183, 2010.

WARREN, H.E. et al. Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. II: Meat stability and flavour. **Meat Science**, Oxon, v.78, p.270-278, 2008.

WARRISS, P.D. The extraction of haem pigments from fresh meat. **Journal of Food Technology**, v.14, p.75-80, 1979.

WOOD, J.D. et al. Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs. **Meat Science**, Oxon, v.67, p.651-667, 2004.

WOOD, J.D. et al. Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Science**, Oxon, v.66, p.21-32, 2003.

YOSHIHARA, M.N. et al. Influência do campo magnético sobre a atividade enzimática. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 17., 2009, Ribeirão Preto. **Resumos...** São Paulo: USP, 2009. CD-ROM. Disponível em: < http://www.usp.br/siicusp/Resumos/17Siicusp/index_CI.htm>. Acesso em: 31 maio 2011.

YOSHIMURA, N. Application of magnetic action for sterilization of food. **Shokuhin Kaihatsu**, v.24, p.46-48, 1989.

ZAKRYS, P.I. et al. Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. **Meat Science**, Oxon, v.79, p.648-655, 2008.

ZHANG, Z. et al. Measurements of heme relaxation and ligand recombination in strong magnetic fields. **The Journal of Physical Chemistry B**, v.113, p.10923-10933, 2009.

ZHOU, G.H.; XU, X.L.; LIU, Y. Preservation technologies for fresh meat – a review. **Meat Science**, Oxon, v.86, n.1, p.119-128, 2010.