

CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS DO MÚSCULO
Longissimus dorsi **DE ANIMAIS *Bos indicus* TRATADOS COM**
VITAMINA D₃

APARECIDA CARLA DE MOURA SILVEIRA PEDREIRA

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em Agronomia, Área de
Concentração: Ciência Animal e Pastagens.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Maio - 2002

CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS DO MÚSCULO
Longissimus dorsi DE ANIMAIS *Bos indicus* TRATADOS COM
VITAMINA D₃

APARECIDA CARLA DE MOURA SILVEIRA PEDREIRA

Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. **SILA CARNEIRO DA SILVA**

Co-Orientador: Prof. Dr. **ALBINO LUCHIARI FILHO**

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de Doutor em
Agronomia, Área de Concentração: Ciência Animal e
Pastagens.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Maio - 2002

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

Pedreira, Aparecida Carla de Moura Silveira

Características qualitativas do músculo *Longissimus dorsi* de animais *Bos indicus* tratados com vitamina D₃ / Aparecida Carla de Moura Silveira
Pedreira. - - Piracicaba, 2002.

45 p.

Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002.
Bibliografia.

1. Gado zebu 2. Músculos 3. Suplementos vitamínicos para animais I.

Título

CDD 636.291

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

*Aos meus queridos João Guilherme e
Carlos Guilherme Silveira Pedreira,*

Dedico

*À minha adorada sogra
Sônia Esther Silveira Pedreira
(in memoriam)*

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Albino Luchiari Filho, pela orientação, amizade e confiança, que muito contribuíram para o meu enriquecimento profissional e para a realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Sila Carneiro da Silva, pelo apoio e colaboração na realização deste trabalho;

Aos Professores do Departamento de Produção Animal da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", pelos ensinamentos no decorrer do curso;

Às funcionárias do Departamento de Produção Animal da ESALQ/USP, Claudia, Vera e Creide, pela simpatia, colaboração e amizade;

Aos colegas do curso de Pós-graduação em Ciência Animal e Pastagens, pela amizade e companheirismo;

Aos Prof. Dr. Pedro Eduardo Felício (FEA/UNICAMP), Prof. Dr. Paulo Roberto Leme (FZEA/USP), Prof^ª. Dr^ª. Ivanete Susin (ESALQ/USP) e Prof. Dr. Claudio Maluf Haddad (ESALQ/USP), pela participação na Banca Examinadora;

À ROCHE, na pessoa do Dr. Antônio Rubens Chagas Lima, pela doação do produto ROVIMIX D₃;

Ao Pesquisador do Instituto de Zootecnia de Brotas, Vanderley Benedito de Oliveira Leite, pela amizade e apoio na realização deste trabalho;

Ao Pesquisador do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, Dr. Guilherme Alleoni, pelo auxílio na utilização do aparelho Warner Braztler Shear Force Device;

À Prof^ª. Dra. Marta Helena Fillet Spoto e a funcionária Juliana Antunes Galvão do Departamento de Agroindústrias, Alimentos e Nutrição, do Setor de

Processamento de Alimentos, pela grande amizade e ajuda nas análises sensoriais;

À Prof^ª. Dr^ª. Marília Oetterer e a funcionária Ivani Aparecida Marchetto Moreno do Departamento de Agroindústrias, Alimentos e Nutrição, do Setor de Processamento de Alimentos pela amizade e auxílio na utilização da embaladora à vácuo;

Ao Prof. Dr. César Gonçalves de Lima, do Departamento de Ciências Básicas da FZEA/USP e a Prof^ª. Dr^ª. Maria Cristina Stolf Nogueira, do Departamento de Ciências Exatas da ESALQ/USP pelos ensinamentos e grande auxílio nas análises estatísticas deste trabalho;

À bibliotecária Eliana Maria Garcia Sabino pela correção das referências bibliográficas e fornecimento da ficha catalográfica;

À Fernanda Nonatto Rizzaro e sua mãe Dra. Sylvia Nonatto pelo grande ajuda e apoio;

À Família Guerrini que nos adotaram como filhos, irmãos e netos e que estiveram presentes nos momentos mais difíceis dessa fase da vida;

À FAPESP, pela Bolsa de Doutorado;

Aos meus pais e irmãos, pelo incentivo, estímulo e amor;

À *Deus*, por tudo.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE QUADROS.....	x
RESUMO.....	xi
SUMMARY.....	xiii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Vitamina D.....	4
2.2 Tipos de Cálcio Existentes no Plasma.....	7
2.3 O Papel do Cálcio na Carne.....	8
2.4 Vitamina D: Requerimentos, Recomendações e Maciez da Carne.....	8
2.5 Resíduos de Vitamina D ₃ e Saúde Humana.....	16
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Animais.....	17
3.2 Tratamentos.....	17
3.3 Abate.....	17
3.4 Força de Cisalhamento e Perdas por Cozimento.....	18
3.5 Análise Sensorial.....	19
3.6 Análise de Minerais para Sangue e Carne.....	20
3.7 Análise Estatística.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1 Características da Carcaça.....	21
4.2 Teor de Glicose no Plasma.....	25

4.3 Concentração de Minerais no Plasma.....	25
4.4 Concentração de Minerais no Músculo.....	27
4.5 Perdas por Evaporação (PE)	29
4.6 Perdas por Gotejamento (PG)	30
4.7 Perdas totais (PT)	31
4.8 Força de Cisalhamento (FC)	32
4.9 Análise Sensorial.....	33
5 CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

LISTA DE TABELAS

Página

- 1 Valores médios das características de carcaças de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 9 dias consecutivos antes do abate..... 22
- 2 Média dos quadrados mínimos (LSM) e erro padrão (EP) das características de carcaça com significância de 5% para animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ (dose X 10⁶ UI/an/dia) por 9 dias consecutivos antes do abate..... 23
- 3 Contrastes lineares para as características de carcaça de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 9 dias consecutivos antes do abate..... 24
- 4 Média dos quadrados mínimos (LSM) e erro padrão (EP) do teor de glicose para animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 9 dias consecutivos antes do abate..... 25
- 5 Média dos mínimos quadrados, média geral, coeficiente de correlação e significância das concentrações de minerais no plasma de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 9 dias consecutivos antes do abate..... 26

- 6 Média dos mínimos quadrados, média geral, coeficiente de correlação e significância das concentrações de minerais no plasma de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 9 dias consecutivos antes do abate..... 28
- 7 Médias dos quadrados mínimos das perdas por evaporação (%) e efeito "sliced" em relação ao tratamento, tempo de maturação e a interação tratamento X tempo de maturação em carcaças de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 9 dias consecutivos antes do abate..... 29
- 8 Médias dos quadrados mínimos de perdas por gotejamento (%) e efeito "sliced" em relação ao tratamento, tempo de maturação e a interação tratamento X tempo de maturação em carcaças de animais *Bos indicus*..... 30
- 9 Médias dos quadrados mínimos de perdas totais (%) e efeito "sliced" em relação ao tratamento, tempo de maturação e a interação tratamento X tempo de maturação em carcaças de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 9 dias consecutivos antes do abate..... 31
- 10 Médias dos quadrados mínimos de força de cisalhamento (Kg) e efeito "sliced" em relação ao tratamento, tempo de maturação e a interação tratamento X tempo de maturação em carcaças de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 9 dias consecutivos antes do abate..... 32
- 11 Valores médios das características de sabor, suculência, maciez e análise geral da análise sensorial realizada em carcaças de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 9 dias consecutivos antes do abate..... 34

LISTA DE QUADROS

Página

1 Balanço da Bovinocultura.....	2
---------------------------------	---

CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS DO MÚSCULO *Longissimus dorsi* DE ANIMAIS *Bos indicus* TRATADOS COM VITAMINA D₃

Autora: A. CARLA M.S. PEDREIRA

Orientador: Prof. Dr.SILA CARNEIRO DA SILVA

Co-Orientador: Prof. Dr.ALBINO LUCHIARI FILHO

RESUMO

Muitas são as técnicas empregadas para se amaciar a carne. Entre as mais recentes está o uso de vitamina D₃, que tem importância na mobilização do cálcio, e é importante na ativação das proteases cálcio-dependentes (μ - e m-calpaína). Neste estudo, 36 machos inteiros (Nelore) foram suplementados por via oral com 4 níveis de vitamina (0, 3, 6 e 9 milhões de UI de vitamina D₃/animal/dia) por um período de dez dias antes do abate. Após esse período de suplementação, os animais foram abatidos e o amaciamento e perdas por cozimento (aos dias 1, 8 e 15 dias de maturação), análise sensorial, pH, área do olho do lombo, espessura de gordura, rendimentos da carcaça, concentração de minerais no plasma (cálcio, magnésio, fósforo, sódio e potássio) e de cálcio no músculo *Longissimus dorsi* foram estudados. Os resultados mostraram que,

não houveram diferenças significativas ($P>0,05$) para as principais características da carcaça, glicose plasmática, concentração de minerais no plasma e músculo, perdas por evaporação, e suculência estimada pela análise sensorial. Houve efeito das doses de vitamina D₃ e tempo de maturação ($P<0,05$), sobre as perdas por gotejamento, perdas totais por cozimento, força de cisalhamento e maciez, sabor e avaliação sensorial. Para as perdas por gotejamento e perdas totais, as menores perdas foram aquelas para a dose 6×10^6 UI/an/dia. Para a força de cisalhamento (FC) a dose 0×10^6 UI/an/dia resultou na menor FC encontrada e em relação ao tempo de maturação foi encontrada uma tendência de redução, onde quanto maior o tempo de maturação, menor a força de cisalhamento encontrada. Para as características estudadas na análise sensorial, a dose 3×10^6 UI/an/dia afetou positivamente as características de maciez, sabor e avaliação geral.

***Longissimus dorsi* MUSCLE QUALITY CHARACTERISTICS FROM
Bos indicus ANIMALS VITAMIN D₃ TREATED**

Author: A. CARLA M.S. PEDREIRA

Adviser: Prof. Dr.SILA CARNEIRO DA SILVA

Co-Adviser: Prof. Dr.ALBINO LUCHIARI FILHO

SUMMARY

Among several techniques to improve beef tenderness, vitamin D₃ (important to calcium mobilization) become, recently, to be used to activates the intracellular calcium-dependent proteases (μ - and m-calpain). Ten days prior to slaughter 36 intact males were fed with 0, 3, 6 and 9 million IU of supplemental vitamin D₃ per head per day. After that period, the animals were slaughtered and tenderness (shear force), cooking losses (1, 8 and 15 days of aging time), sensory evaluation, muscle pH, Longissimus muscle area, fat thickness, carcass yield grade, blood plasma measurements (glucose, calcium, magnesium, sodium and potassium), and muscle mineral levels from the *Longissimus dorsi* muscle were determined. The results showed that, there were not significant

differences ($P > 0,05$) for carcass quantitative and qualitative traits, blood plasma glucose concentration, blood plasma and muscle minerals concentration, evaporation losses, and sensory juiciness. There was effect of vitamin D₃ doses and ageing ($P < 0,05$) on drip loss and total cooking loss, shear force, sensory tenderness, flavor and overall palatability. For drip and total loss, the smallest losses went those to 6×10^6 UI/an/day. 0×10^6 UI/an/day dose resulted in the smallest shear force and in ageing time was observed a reduction tendency, where the longer the ageing time, smaller was the shear force observed. For sensory evaluation, 3×10^6 UI/an/day dose affected the tenderness, flavor and overall palatability characteristics positively.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, ficando atrás apenas da Índia.

Nos últimos 5 anos a pecuária brasileira sofreu intensas mudanças, como pode ser observado no Quadro 1. Entre essas mudanças podemos citar um crescimento no número de animais do rebanho e na quantidade de animais abatidos; uma maior produção de carne, na taxa de abate, nas exportações e redução das importações, explicadas pelo uso de novas tecnologias de produção, associadas a demanda dos mercados interno e externo. Crescimento que também foi observado na população brasileira e no consumo interno.

No Brasil, a carne produzida é predominantemente de animais *Bos indicus* sendo considerada menos macia por apresentar maior atividade da calpastatina (Whipple et al., 1990).

A maciez da carne é influenciada por fatores *ante* e *post mortem*. Entre os fatores *ante mortem* podemos citar o estresse, genética, alimentação e a idade ou maturidade. Dentre os fatores *post mortem* podemos citar o declínio de pH, o tipo de resfriamento (o qual não sendo adequado pode causar problemas como encurtamento pelo frio, rigor de descongelamento, rigor de aquecimento e processamento acelerado), o uso de estimulação elétrica, maturação e métodos de cocção. Estes fatores serão responsáveis pelos efeitos sobre a capacidade de retenção de água (CRA), cor, firmeza, maciez, sabor, suculência, capacidade de emulsificação, rendimentos do processo e cor dos produtos processados.

BRASIL	2001	2000	1999	1998	1997
Rebanho *	161,8	159,4	157,4	154,7	153,6
Abate *	34,1	32,8	31,0	31,4	31,5
Produção ***	7.022	6.681	6.422	6.413	6.409
Taxa de abate (%)	21,1	20,6	19,7	20,3	20,5
Exportação ***	710	554	541	370	287
Importação ***	36	57	42	79	112
População Brasileira **	172,4	169,4	166,4	163,1	159,9
Consumo interno ***	6.348	6.184	5.923	6.122	6.233

Fonte: ANUALPEC 2001

Quadro 1- Balanço da Bovinocultura

Rebanho em 31 de dezembro de cada ano

* Milhares de Cabeças

** Milhões de Habitantes

*** Milhares de Toneladas de Equivalente Carcaça

Uma vez que a maciez da carne é a característica organoléptica mais importante para o consumidor; ser influenciada por fatores *ante e post mortem* e os animais criados no Brasil apresentam carne menos macia, uma das soluções seria a utilização de métodos tecnológicos para melhorar sua maciez.

Nos últimos anos muitas técnicas foram empregadas para amaciar a carne como: resfriamento retardado, manejo de câmara fria, suspensão pélvica, estimulação elétrica, maturação, utilização de cloreto de cálcio e propionato de cálcio. Estas técnicas foram estudadas e empregadas de forma individual ou em combinação, e todos esses métodos se baseiam, principalmente, em aumentar a maciez através do aumento do comprimento do sarcômero, aumento da atividade autolítica das enzimas, aumento da liberação de enzimas lisossômicas, aumento da tensão sobre diversos músculos do lombo e da perna, minimizar a desnaturação protéica, perda da força de tensão do componente miofibrilar da célula muscular

devido a desintegração das bandas Z, ruptura da fibra muscular e fornecimento de cálcio exógeno para as proteases dependentes de cálcio (μ - e m-calpaínas). Este processo consiste em acelerar o amaciamento através da ativação de m-calpaína, que em condições normais pós-morte é pouco ativada, por necessitar de uma maior concentração de íons cálcio para ser ativada.

A vitamina D₃ é utilizada rotineiramente na dieta para prevenir problemas de febre do leite em vacas em lactação, através de sua atuação no metabolismo de cálcio elevando o nível sanguíneo do mesmo (Morgan, 1998a,b). Seu uso no amaciamento da carne é uma tecnologia recente, e consiste no fornecimento de médios a altos níveis da vitamina D₃ por via oral, o que disponibilizaria cálcio o suficiente para ativar as proteases dependentes de cálcio (μ - e m-calpaínas) e acelerar o processo de amaciamento da carne (Montgomery et al., 2000a,b,c; Morgan, 2000; Swanek et al., 1999a,b,c).

O presente estudo teve como objetivos estudar o amaciamento e perdas por cozimento (aos dias 1, 8 e 15 dias de maturação), análise sensorial, pH da carne, área do olho do lombo, espessura de gordura, rendimentos da carcaça, concentração de cálcio, magnésio, fósforo, sódio e potássio plasmático e de cálcio no músculo *Longissimus dorsi*, em animais *Bos indicus* (Nelore), recebendo 4 níveis de vitamina D₃ (0, 3, 6 e 9 milhões de UI/animal/dia) por um período de 10 dias antes do abate.

2 REVISÃO DE LITERATURA

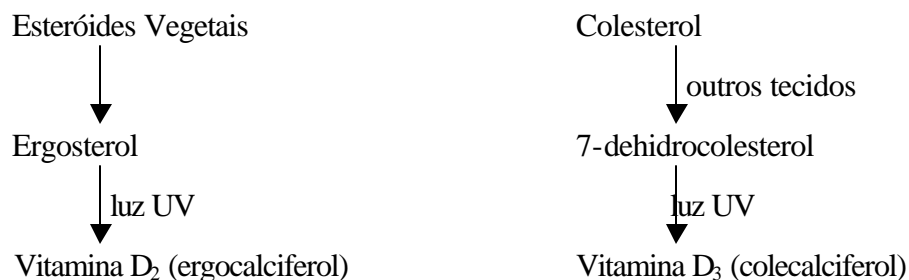
2.1 Vitamina D

As vitaminas são um grupo complexo de compostos orgânicos requeridos em pequenas quantidades pelo organismo para a manutenção dos sistemas vitais. Apesar de serem consideradas essenciais na dieta (necessárias para que ocorram reações metabólicas específicas no interior das células), as vitaminas são obtidas através dos alimentos (em pequenas quantidades).

As vitaminas são classificadas segundo a solubilidade, sendo agrupadas em hidrosolúveis (solúveis em água) e em liposolúveis (solúveis em gorduras). No grupo das hidrosolúveis são encontradas as vitaminas do complexo B e C. No grupo das liposolúveis estão as vitaminas A, D, E e K (Andriguetto et al., 1981; Gaman & Sherrington, 1981).

No organismo, a vitamina D é necessária para a absorção de cálcio e fósforo, normal mineralização dos ossos, mobilização do cálcio do osso e imunidade. A função principal da vitamina é elevar os níveis de cálcio e fósforo do plasma por supersaturação, no qual é necessária para a mineralização normal dos ossos. Isto se realiza estimulando a absorção intestinal do cálcio e fósforo, a mobilização dos ossos já formados e melhorando a reabsorção renal (Blezinger, 2001; Bondi, 1988; Gaman & Sherrington, 1981; Weiss, 1998).

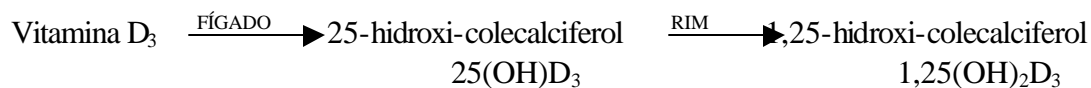
A vitamina D é encontrada em 2 formas na natureza, a vitamina D₂ (ergocalciferol) e a vitamina D₃ (colecalfiferol). A vitamina D₂ é conhecida como sendo a forma sintética da vitamina, mas apresentando a mesma atividade que vitamina natural (D₃). Ela é sintetizada por radiação ultravioleta a partir do esteróide ergosterol (presente nos vegetais, fungos e levedura). Esta é a forma como a vitamina é adicionada aos alimentos industrializados, como a margarina e alimentos infantis. A vitamina D₃ é conhecida como a forma natural (presente nos tecidos animais), podendo ser formada sob a pele pela influência dos raios solares (radiação ultravioleta) sobre o 7-deidrocolesterol (Blezinger, 2001; Bondi, 1988; Gaman & Sherrington, 1981).



Segundo Bondi (1998) e Roche (2000), sua presença na ração animal não é necessária, pois a exposição dos animais a luz solar faz com que os fótons de alta energia UV (290-315 nm) penetrem na epiderme e transformem o 7-deidrocolesterol (pró-vitamina D₃) a pré-vitamina D₃. Uma vez formada, a pré-vitamina D₃ transforma-se em vitamina D₃ por isomerização térmicamente induzida, levando de 2-3 dias para que isso ocorra.

Para os mamíferos a vitamina D₂ apresenta menor atividade biológica que a vitamina D₃, devido seus metabólitos apresentarem menor afinidade pelas proteínas transportadoras presentes no plasma (Bondi, 1988).

A absorção de vitamina D se realiza como os outros lipídeos, no trato intestinal. A vitamina D absorvida no intestino chega ao sangue e é transferida para a maioria dos tecidos do organismo, em especial o fígado. A vitamina D₃ (exógena e endógena) se metaboliza no fígado para formar 25-hidroxi-vitamina D₃ [25(OH)D₃]. A [25(OH)D₃] não atua diretamente nos tecidos de destino, sendo que deve ser modificada novamente; sendo então transportada até o rim onde é hidrolizada a 1,25-dehidroxi-vitamina D₃ [1,25(OH)₂D₃]. Esta forma é a forma fisiologicamente ativa da vitamina D, apresentando cinco vezes mais atividade do que a 25-hidroxi-vitamina D₃ (Bondi, 1988; NRC, 1996).



A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ é considerada a forma hormonal da vitamina D, uma vez que cumpre os critérios empregados para os hormônios, ou seja, é produzida em um local (no rim) e irá atuar em outro lugar (intestino, ossos e dentes, como tecidos de destino); sendo a sua produção regulada por um mecanismo de retroalimentação (Bondi, 1988; Gaman & Sherrington, 1981).

A formação de $25(\text{OH})\text{D}_3$ é controlada no fígado, evitando-se assim uma possível formação excessiva de vitamina D. Assim, a conversão controlada de vitamina D permite conservar a vitamina D para sua utilização posterior, já que a vitamina D, mas não seus derivados, pode conservar-se em todos os tecidos ricos em lipídeos do organismo (Bondi, 1988).

A forma circulante no plasma [$25(\text{OH})\text{D}_3$] não é regulada pelos níveis de cálcio e fósforo do soro sanguíneo, entretanto, o ritmo da formação do metabólito $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ está relacionado com as concentrações de cálcio e fósforo do soro. Para aumentar a calcemia é necessária maiores quantidades de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Altos níveis de cálcio reduzem a formação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e os baixos níveis a estimulam. Ainda, a falta de cálcio determina a secreção do hormônio da paratireóide que por sua vez, estimula a conversão enzimática de $25(\text{OH})\text{D}_3$ em $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Por outro lado, o hormônio da paratireóide estimula diretamente a absorção do cálcio para a formação dos ossos. Uma ação regulatória mais importante ocorre no fígado, através da indução da 24-hidroxilação, a qual leva a formação de $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ do $25(\text{OH})\text{D}_3$ e de $1,24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. A 24-hidroxilação leva a inativação de potentes metabólitos da vitamina D (Bondi, 1988).

O principal local de atividade da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ é o intestino, onde aumenta a absorção de cálcio. Ainda, sugere-se que o $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ seja o responsável pela mineralização dos ossos e pela supressão da secreção do hormônio paratireóide (Bondi, 1988).

O modo de ação do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ainda não é muito compreendido, mas acredita-se que atue como hormônio esteróide através da síntese de RNAm. A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ entra na célula e é transportada até a cromatina como um complexo de receptor-hormônio. O

complexo e o RNA polimerase II combinam-se, resultando no aumento da síntese RNAm da proteína cálcio-ligante havendo aumento na síntese desta proteína, aumentando a capacidade de absorção de cálcio pelo enterócito (Bondi, 1988; Maynard et al., 1979).

A deficiência de vitamina D causa o raquitismo (em jovens) e a osteomalácia (em adultos). Dietas pobres em cálcio ou fósforo, ou mal balanceadas, também causam esses problemas (Blezinger, 2001; NIHCC, 2000; Stanton, 2001).

Os ossos da perna, ossos do tórax (distorção dos ossos do tórax) e ossos da coluna vertebral são diretamente afetados com a deficiência de vitamina D. Outras condições como casca mole dos ovos também são o resultado da deficiência de cálcio e fósforo (Roche, 2000; Blezinger, 2001; NIHCC, 2000).

O excesso de vitamina D também causa problemas como, depressão da performance, letargia, calcificação de tecidos moles, parada cardíaca, fadiga, problemas intestinais, enfraquecimento muscular, perda do apetite e excessiva micção (urinação). Excessos de 4-10 vezes a dose recomendada deve ser evitada (Roche, 2000; Stanton, 2001).

2.2 Tipos de Cálcio Existentes no Plasma

A concentração normal de cálcio no plasma é da ordem de 8,8 a 10,4 mg/dL. 40% do cálcio sanguíneo total está ligado as proteínas plasmáticas, em especial a albumina. Os 60% restantes incluem o cálcio ionizado mais o cálcio complexado com fosfato e citrato. O cálcio total (que é a soma do cálcio ligado à proteína, mais o complexado e o ionizado) é usualmente determinado por análise clínicas laboratoriais do cálcio plasmático. O cálcio ionizado e o livre podem ser determinados, desde que estejam fisiologicamente na forma ativa do cálcio no plasma. Existia uma dificuldade de se medir o cálcio ionizado, assim não sendo rotineiramente medido. Atualmente o cálcio ionizado pode ser medido através de eletrodos íon-específicos. A fração de cálcio ionizado é geralmente medida a partir do cálcio plasmático total (Merck, 2001).

2.3 O Papel do Cálcio na Carne

Segundo Nakamura (1973) e Taylor & Etherington (1991), o íon cálcio é conhecido como um agente regulador do sistema contrátil, além de apresentar um papel importante no fenômeno de amaciamento da carne durante maturação pós-morte. Os íons cálcio removem especialmente as linhas-Z das fibras musculares, enfraquecendo a força das fibras musculares e a sua concentração aumenta gradualmente durante a maturação pós-morte. Esse aumento, quando o nível de ATP intracelular cai abaixo de 0,1 mM (normalmente com um pH perto de 6,2), parece ser devido a liberação de cálcio que estava ligado ao retículo sarcoplasmático e à mitocôndria. Nessas condições, íons cálcio podem ativar as calpaínas e tem sido observado que o enfraquecimento precoce pós-rigor das enzimas das fibras musculares é devido especialmente a proteólise dessas proteínas. Quando o pH ao redor de 5,5 é atingido, membranas lisossômicas são quebradas, liberando as enzimas catepsinas que também atuam no processo de amaciamento.

2.4 Vitamina D: Requerimentos, Recomendações e Maciez da Carne

Requerimento é a quantidade de um nutriente necessário para manter o animal em estado saudável, permitindo sua reprodução, produção de leite e ganho de peso quando o animal é criado em condições ambientais específicas. Recomendação é a quantidade de um nutriente que irá atingir os requerimentos para animais em condições ambientais menos definidas e irá incluir uma margem de segurança para as variações na ingestão, produção e disponibilidade do nutriente. A recomendação também deve considerar o custo do nutriente, o custo de sua deficiência, e o seu potencial para toxicidade (Weiss, 1998).

Segundo Weiss (1998) o custo anual de vitamina D para vacas leiteiras adultas (lactação de 305 dias e período seco de 60 dias) é de US\$ 0,60; sendo o seu requerimento de 30 UI/kg de peso vivo.

Para bovinos de corte, o requerimento de vitamina D seria de 275 UI/kg de matéria seca. A UI é definida como sendo 0,025 µg de colecalciferol ou seu equivalente (NRC, 1996).

Na década de 50, estudos mostraram que a febre do leite em vacas em lactação poderia ser prevenida pela elevação do nível de cálcio sanguíneo através da suplementação com vitamina D₃ na dieta (Morgan, 1998a,b). O uso de vitamina D₃ para o amaciamento da carne é uma tecnologia recente, e consiste no fornecimento de médios a altos níveis da vitamina D₃ por via oral.

Em trabalho realizado por Montgomery et al. (2002) a vitamina D₃ inibiu o ganho médio diário e a ingestão de matéria seca. A concentração de cálcio plasmático e muscular cresceu linearmente com a dose fornecida e a não foi influenciada pela dose de vitamina D₃. A suplementação com vitamina D₃ não influenciou nas características de qualidade e rendimento das carcaças e na atividade de calpastatina. A maciez e as características sensoriais foram afetadas positivamente com a suplementação com vitamina D₃. Assim, os autores concluíram que o tratamento com vitamina D₃ efetivamente melhorou a maciez quando os animais apresentaram uma tendência de apresentarem carne menos macia e sem nenhum impacto em carne de animais com carne mais macia. A melhor dose de vitamina D₃, que não influenciou as características da carcaça e o nível de resíduos nos tecidos e melhorou a maciez foi o de $0,5 \times 10^6$ UI/an/dia.

Em trabalho realizado por Karges et al. (2001), a ingestão de matéria seca foi menor para os animais suplementados com vitamina D₃ por 4 ou 6 dias consecutivos. O peso vivo e o peso da carcaça foram menores para animais suplementados com vitamina D₃. A dose de vitamina D₃ fornecido por 6 dias consecutivos antes do abate resultou em menores valores de força de cisalhamento, aumento da concentração de cálcio plasmático e não teve efeito do fornecimento de vitamina D₃ sobre a análise sensorial.

Em novilhos e novilhas Brahman, Kotrla et al. (2001) mostraram que a suplementação com vitamina D₃ elevou a concentração de cálcio sérico e que sua administração antes do

abate, seguida de um período de 7 dias de alimentação normal, melhorou a maciez de carcaças desses bovinos.

Animais tratados com a vitamina D₃ e seus metabólitos (25(OH)D₃ e 1,25(OH)₂D₃) mostraram que a vitamina D₃ foi mais eficaz na elevação da concentração dos metabólitos na carne, mas a administração dos metabólitos aumentou a concentração desses compostos no plasma. Para a maciez, a vitamina D₃ e o metabólito 25(OH)D₃ produziram bifes de contrafilé e coxão mole com menores valores de força de cisalhamento (Foote et al., 2001).

Novilhos tratados com 0, 0.5, 1 ou 5x10⁶ UI de vitamina D₃, por um período de 7, 8 e 9 dias de suplementação apresentaram maior concentração de cálcio subcelular da mitocôndria, de proteínas do retículo sarcoplasmático e maior concentração de fósforo miofibrilar. A dose de 5x10⁶ UI de vitamina D₃, aumentou a quantidade de cálcio citosólico livre e fósforo ligado do retículo sarcoplasmático. O animais tratados com vitamina D₃ tiveram maior mobilização do cálcio do sistema dos túbulos-T e maior deposição de cálcio ligado perto da linha-Z, o que resultou na redução dos valores de WBS e a melhora da maciez. Esta melhora na maciez de diversos cortes cárneos foi considerada uma excelente ferramenta na melhora da qualidade e na consistência de carne para varejo e *fast food*. Segundo Montgomery et al. (2001a,b) concluíram que a o melhor tratamento foi o de 0,5x10⁶ UI de vitamina D₃, por além de melhorar a maciez não afetou a performance dos animais e nem deixou resíduos no fígado.

Scanga et al. (2001) mostraram que animais tratados com uma combinação entre vitamina D₃ e carbonato de cálcio (CaCO₃) tiveram redução no peso vivo final, no ganho de peso diário e na ingestão de alimentos. A redução do consumo de alimentos pelos animais foi considerada como sendo um indicativo de toxicidade aos níveis supranutricionais de vitamina D₃ fornecidos. Houve um aumento na concentração de cálcio sérico total, demonstrando assim a efetividade da vitamina D₃ em manipular a concentração de cálcio circulante. Não foi observado efeito do tratamento com vitamina D₃ na força de cisalhamento, o que diferiu de outros trabalhos já realizados.

Segundo Rentfrow et al. (2001), novilhas suplementadas com altos níveis de vitamina D₃ ou com uma mistura entre vitamina D₃ e vitamina E apresentaram uma elevação na concentração de cálcio sérico, mas não apresentaram redução na força de cisalhamento.

Usando-se a vitamina D₃ em cordeiros com gene *callipyge*, Wiegand et al. (1998, 2001) observaram que níveis entre 500.000 e 2x10⁶ UI de vitamina D₃ e suplementação por 5 ou 7 dias antes do abate não foram suficientes para melhorar a maciez (reduzir os valores de força de cisalhamento) do músculo *Longissimus*.

Com a hipótese que a vitamina D₃ aumentaria o amaciamento da carne, através do aumento os níveis de cálcio no tecido, sendo assim ativadas as enzimas proteolíticas que degradam certas proteínas musculares, Berry et al. (2000) trataram novilhos com 6x10⁶ UI de vitamina D₃ por um período de 7 dias antes do abate. Em seus resultados foram observados que, a ingestão de matéria seca foi reduzida nos animais tratados com a vitamina D₃, sendo que a redução da ingestão de matéria seca resultou em diminuição do ganho diário e da relação ganho:consumo; os novilhos tiveram menor maturidade esquelética; as carnes de animais tratados com vitamina D₃ foram menos macias; aumentou a concentração de cálcio sérico e que, mesmo retirando-se a vitamina da dieta 2 dias antes do abate esta concentração ainda permaneceu elevada.

Em trabalho de Boleman et al. (2000), a utilização de uma suplementação com 750.000 UI de vitamina D₃, por um período de 4 dias antes do abate resultou em maiores níveis de vitamina D₃ no fígado, não mostrou diferenças nos níveis de cálcio ionizável do sangue, melhorou a maciez da carne, houve uma menor espessura de gordura em carcaças de animais tratados com vitamina D₃ e com escore geral de conformação (OCS) maior para a vitamina D₃.

Segundo Enright et al. (2000a,b), em suínos a vitamina D₃ reduziu o ganho de peso diário, a proporção ganho:alimento, o peso vivo ao abate e o peso da carcaça, aumentou a concentração de cálcio sérico, melhorou a coloração do músculo e da capacidade de retenção de água, e não afetou o rendimento.

Para tratamentos com 0, 6 ou $7,5 \times 10^6$ UI de vitamina D₃, Morgan & Gill (2000) mostraram que houve um aumento da concentração de cálcio intramuscular, melhora da maciez da carne e maior atividade proteolítica das calpaínas.

Montgomery et al. (2000a,b) mostraram um aumento da concentração de cálcio plasmático de 150 a 170 vezes quando do fornecimento de 5,0 ou 7,5 milhões de UI de vitamina D₃. Foi também observado aumento na concentração de vitamina D₃ no fígado (71-114 vezes) e rim (24-27 vezes). A suplementação com vitamina D₃ melhorou a maciez da carne (reduziu o valor de força de cisalhamento) e não afetou a análise sensorial feita nas carnes contra-filé, a cor e os graus de rendimento e qualidade. Pelo teste de Western blotting foi observado um maior aparecimento do componente 30 kDa, como resultado da degradação da troponina-T pela calpaína. Também foi observada redução do ganho médio diário (pela diminuição da ingestão de alimentos), quando os animais foram tratados com 5×10^6 UI de vitamina D₃. Doses menores de vitamina D₃ não afetaram negativamente o ganho médio diário, a ingestão de alimentos e as características de carcaça.

Através da caracterização da degradação muscular, Montgomery et al. (2000c) mostraram que em algumas raças a maior concentração de vitamina D₃ na suplementação deve funcionar como um mecanismo secundário no músculo para aumentar a degradação da proteína muscular.

Segundo Ribeiro (2000), o uso de vitamina D₃ (na quantidade e no período utilizado) foi insuficiente para causar alterações na maciez da carne.

Em vacas para descarte, a suplementação com vitamina D₃ aumentou a concentração de cálcio muscular, melhorou os valores de força de cisalhamento (maciez) e não afetou a análise sensorial (Rider et al., 2000).

Em um trabalho realizado por Hill et al. (1999), novilhos tratados com $7,5 \times 10^6$ UI de vitamina D₃ por um período de 10 dias antes do abate apresentaram um aumento na concentração de cálcio muscular, com pouca diferença na concentração de cálcio, magnésio e fósforo plasmático, sem diferenças entre os valores da atividade de calpastatina e força de

cisalhamento, redução da ingestão de matéria seca em 14%; concluindo-se então que altos níveis de vitamina D₃ em curtos períodos de fornecimento não é um método eficaz de melhorar a maciez da carne.

Trabalhos de Karges et al. (1999a,b,c,d) com suplementação de altos níveis de vitamina D₃, para novilhos, resultou em um aumento na concentração de cálcio e fósforo plasmático, aumento do pH muscular, redução na concentração de magnésio plasmático, redução no peso da carcaça e peso vivo dos animais (em decorrência da redução na ingestão de matéria seca), aumento na maciez de bifes de contra-filé e sem diferenças na atividade de calpastatina. A partir desses resultados foi concluído que, a associação entre o aumento do pH muscular e a concentração de cálcio deve ter influenciado o processo de amaciamento pós-morte; que a vitamina D₃ alterou os padrões de ingestão e reduziu a ingestão de alimentos quando a quantidade total de vitamina D₃ ingerida nos primeiros dias excederam aproximadamente 30 UI.

Animais tratados com 6×10^6 UI de vitamina D₃ por um período de 4 ou 6 dias antes do abate, reduziram a ingestão de matéria seca a partir do 5º dia de suplementação, o que motivou a redução do período de fornecimento da vitamina D₃. O peso vivo, parâmetros do peso da carcaça, área do olho do lombo, espessura de gordura e grau de rendimento não foram afetados quando o fornecimento da vitamina D₃. O grau de qualidade (*quality grade*) melhorou em 20%. A concentração de vitamina D₃ no fígado, rim e músculo foi aumentada. E não houve diferenças na maciez da carne (Meredith & Morgan, 1999; Morgan et al., 1999).

Novilhos tratados com doses de 0, 0.5, 1, 2.5, 5 ou 7.5×10^6 UI de vitamina D₃ por um período de 8 dias antes do abate mostraram resultados de elevação da concentração de cálcio plasmático (quanto maior a dose de vitamina, maior a concentração de cálcio plasmático). Resíduos de vitamina D₃ e seus metabólicos foram encontrados no fígado e na carne, a partir da dose de 1×10^6 UI de vitamina D₃ (Montgomery et al., 1999a,b).

Segundo Vargas et al. (1999a,b) o tratamento com vitamina D₃ sozinho ou em conjunto com a vitamina E resultaram em animais mais pesados. Para animais tratados com

vitamina D₃, o ganho de peso médio diário (GMPD) foi menor para animais tratados com vitamina D₃ e a ingestão de matéria seca (IMS) foi similar para todos os tratamentos. A redução do GMPD foi devido a uma redução da ingestão de alimentos, como um resultado de uma hipercalcemia (elevação dos níveis de cálcio sérico) causada pela suplementação com a vitamina. Ainda foram observados maiores graus de rendimento (*yield grade*), aceleração do processo de maturação e melhora da maciez da carne de animais tratados com vitamina D₃.

Em 1999(a,b), Swanek et al. realizaram três experimentos usando animais mestiços Angus, Hereford, Charolês e Brangus, e estudando diferentes níveis de cálcio (0, 2.5, 5.0, 7.0 milhões de UI de vitamina D₃) e tempos de suplementação (7 ou 10 dias antes do abate). No experimento 1, observou-se que uma suplementação com 7,5 milhões de UI de vitamina D₃ durante 10 dias resultou em um aumento da concentração de cálcio plasmático (8-48%). No experimento 2, uma suplementação durante 7 dias com 5×10^6 UI de vitamina D₃ e maturação da carne por 7 dias reduziu a força de cisalhamento (0,58 kg) e melhorou a taxa de maciez sensorial (0,6 unidades). E no experimento 3, uma suplementação com $7,5 \times 10^6$ UI de vitamina D₃ durante 10 dias resultou em um aumento na concentração de cálcio plasmático e muscular, melhorou a maciez em cortes maturados por 7 e 14 dias e a maciez sensorial. Com esses experimentos, concluiu-se que a elevação da concentração de cálcio muscular, como resultado da suplementação com vitamina D₃, pareceu ser o responsável pelo amaciamento da carne provavelmente devido a pronta ativação das proteases cálcio-dependentes (calpaínas). Em outro trabalho de Swanek et al. (1999c) a dose de $7,5 \times 10^6$ UI por um período de 10 dias antes do abate causou elevação da concentração de cálcio muscular, reduziu os valores de força de cisalhamento em 18% e reduziu a atividade de μ - e m-calpaína com 24 horas de pós-morte, o que indica que a suplementação com vitamina D₃ aumentou a concentração de cálcio muscular o bastante para ativar e acelerar o processo de amaciamento.

Segundo Enright et al. (1998a,b), a suplementação com altos níveis de vitamina D₃ durante 10 dias antes do abate resultou em um aumento na concentração de cálcio sanguíneo, melhorou a coloração e a capacidade de retenção da água do lombo, reduziu a ingestão de

alimento e a taxa de crescimento, e não apresentou nenhum efeito sobre a palatabilidade do produto final.

Em um resumo de sete trabalhos, escrito por Morgan (1998a,b), o fornecimento de vitamina D₃ aumenta em 30-40% a concentração de cálcio muscular; sendo este nível de cálcio o suficiente para ativar o sistema de amaciamento das proteases cálcio-dependentes (calpaínas), resultando na redução da dureza da carne em até 50%.

Montgomery et al. (1998) mostraram que a suplementação com vitamina D₃ (5 ou 7,5x10⁶ UI de vitamina D₃ por um período de 9 dias antes do abate) aumentou a concentração de cálcio plasmático e cálcio muscular e melhorou a maciez da carne.

Trabalhando com suínos, Sparks et al. (1998) realizou 3 experimentos utilizando diferentes doses e tempos de fornecimento de vitamina D₃ antes do abate. Para os animais tratados com a vitamina D₃ foram observadas elevação na concentração de cálcio no plasma; sem diferenças nas características de rendimento da carcaça; aumento do pH final da carcaça; sem diferenças na coloração, firmeza, marmoreio ou pH do lombo (com 1, 7, 14 ou 21 dias de maturação pós-morte) e sem melhora na maciez da carne (medida pelo Warner Braztler Shear e Star Probe).

Em trabalho escrito por Beitz et al. (1997), a carne de animais tratados com vitamina D₃ teve menores valores de força de cisalhamento, sugerindo assim que a suplementação com vitamina D₃ melhora a maciez em todos os tempos de maturação. Este resultado foi confirmado através da realização do teste de Western blotting, que detectou aumento do aparecimento do componente 30 kDa, resultado da maior degradação da troponina-T pela calpaína.

Swanek et al. (1997) observaram que a dose de 5x10⁶ UI, por um período de 5 dias antes do abate reduziu a força de cisalhamento em 6,6% (após 7 dias de maturação) e a dose 7,5 X 10⁶ UI, por um período de 10 dias reduziu a força de cisalhamento em 18%. Estes resultados foram devido a elevação do cálcio plasmático (10,39 mg/dL X 9,23 mg/dL) e a redução do magnésio plasmático (1,88 meq/dL X 1,46 meq/dL).

2.5 Resíduos de Vitamina D₃ e Saúde Humana

Apesar da vitamina D₃ parecer ser uma nova ferramenta a ser utilizada para o amaciamento pré-abate da carne, a ingestão de níveis elevados de vitamina D₃, por longos períodos de tempo, pode causar alguns efeitos negativos como redução da ingestão de alimentos e taxa de crescimento pelos bovinos. Em humanos, o consumo da carne, do fígado e do rim de animais tratados com altos níveis de vitamina D₃ podem causar alguns distúrbios no metabolismo de cálcio, podendo ser prejudicial a saúde (Dikeman et al., 2000).

Em trabalho de Foote et al. (2001), animais tratados com a vitamina D₃ e seus metabólitos (25(OH)D₃ e 1,25(OH)₂D₃) mostraram o aparecimento de uma quantidade substancial de resíduo de vitamina D₃ e 25(OH)D₃ e pouca da forma ativa hormonal 1,25(OH)₂D₃ na carne.

Segundo Kotrla et al. (2001) a ingestão de doses de $3,5 \times 10^6$ UI de vitamina D₃, por um período de 6 ou 13 dias de suplementação, resultou em um aumento na concentração de vitamina D₃ no fígado de 280%. Quando, após a suplementação, os animais permanecem por um período de 7 dias sem a vitamina D₃, a sua concentração no fígado voltou ao normal.

Bifes de animais tratados com vitamina D₃ apresentaram de 78 a 91 ng de vitamina D₃/grama o que é aproximadamente 24 vezes a mais que a concentração do controle. A exigência diária de adultos é de 10 µg (NRC, 1989). Desse modo, para se consumir 80 ng de vitamina D₃/grama seria necessário a ingestão de 125 g de bife de *strip loin* ou *top round* para atingir essa exigência, ou ainda consumindo 16,4 g de fígado de animais tratados com 5 milhões de UI de vitamina D₃ (610 ng vitamina D₃/g). O cozimento do fígado a 75 °C resultou em uma redução de 10-30% nas concentrações de vitamina D₃ (Montgomery et al., 1999b; 2000a; 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados 36 animais machos, castrados e da raça Nelore. Estes animais eram provenientes de um rebanho particular e permaneceram em piquetes de 7 m², com dois animais por piquete, pelo período de 20 dias antes do abate no Instituto de Zootecnia de Brotas, onde receberam os tratamentos com vitamina D₃.

3.2 Tratamentos

Os tratamentos foram preparados no Departamento de Zootecnia, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", em Piracicaba, SP.

Aos animais foi fornecido 0, 3, 6 e 9 milhões de UI de vitamina D₃/animal/dia, utilizando-se ROVIMIX[®] D₃ 500 da Roche, em um período de dez dias antes do abate. O fornecimento foi feito por via oral, misturado ao concentrado.

3.3 Abate

Antes do abate os animais foram pesados para registro do peso vivo (PV). Após o abate (moblização, atordoamento, sangria, esfolagem, evisceração e separação do corpo do animal em duas 1/2 carcaças), a carcaça foi pesada quente (PCQ); em seguida as 1/2 carcaças foram resfriadas por um período de 24 hs em câmara fria (0-4°C). Vinte e quatro horas após o abate e terem ficado sob refrigeração (0-4°C), as carcaças foram pesadas para obtenção do peso da carcaça resfriada (PCR) e o pH determinado. A área do olho do lombo (AOL) foi medida entre a 12^a-13^a costela, no lado esquerdo da carcaça, utilizando um grid de plástico (padrão USDA) quadriculado com 10 quadrados por cada 2,54 cm². A espessura da gordura (EG) foi medida na altura da 12^a-13^a costela, no lado esquerdo da carcaça, com uma régua graduada específica para a medição da gordura. Foram ainda estimadas as porcentagens de carcaça quente e resfriada (RQ e RF). De cada animal abatido foram retiradas porções entre a 12^a costela e a 5^a vértebra lombar, que serviram para a avaliação da

maciez e testes de cozimento, obtendo-se valores da força de cisalhamento (WBSF), porcentagem de perdas por evaporação (PPE), perdas por gotejamento (PPG) e perdas totais (PPT). Além disso, uma porção de carne de mesma localização foi utilizada para determinação da concentração de cálcio, magnésio, fósforo, sódio e potássio.

3.4 Força de Cisalhamento e Perdas por Cozimento

Segundo recomendações do Meat Animal Research Center, Clay Center, NE, USDA (procedimento padrão seguido por laboratórios certificados para analisar a maciez da carne de bovinos em programas de melhoramento genético) e AMSA (1978) foram realizados os seguintes procedimentos para a análise da força de cisalhamento e perdas por cozimento:

- 1) Após o período de resfriamento da carcaça por 24 horas em câmara fria (4 °C), bifes de 2,5 cm de espessura do músculo *Longissimus dorsi* (contra-filé), entre a 12^a costela e a 5^a vértebra lombar (lado esquerdo), sem osso e sem excesso de gordura foram retiradas, embaladas a vácuo e transferidas para um câmara fria (0-3°C) onde permaneceram em maturação por 1, 8 e 15 dias, e depois congeladas a (-20°C) para posterior análise da força de cisalhamento e das perdas por cozimento;
- 2) Os bifes de 2,5 cm de espessura, congelados e maturados por 1, 8 e 15 dias após o abate, foram descongelados a temperatura de 2-5°C até que a temperatura interna fosse de 2-5°C (período de descongelamento entre 24-36 hs);
- 3) Após atingirem temperatura interna entre 2-5°C, os bifes foram assados (no máximo quatro amostras de cada vez) em forno elétrico (pré-aquecido a 170°C) até a temperatura interna atingir 71°C (o monitoramento da temperatura foi feito com termômetros especiais, colocados no centro geométrico de cada bife);
- 4) Os bifes foram pesados antes e depois do cozimento para a determinação da porcentagem de perdas por cozimento;
- 5) Os bifes foram resfriados à temperatura ambiente e colocados na geladeira a 2-5°C (de um dia a outro) antes de serem removidas pequenas amostras cilíndricas;

- 6) Após o resfriamento foram removidas seis a oito amostras cilíndricas de 1,27 cm de diâmetro, paralelamente à orientação das fibras musculares e sendo essas amostras conservadas em geladeira até a medição da força de cisalhamento;
- 7) Para a análise da força de cisalhamento utilizou-se de um aparelho Warner Bratzler Shear Force Device ou outro aparelho com célula WB acoplada e velocidade fixada a 20 cm/min.

3.5 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Análises Sensoriais do Departamento de Tecnologia de Alimentos da ESALQ-USP, seguindo-se os procedimentos do AMSA (1978), onde:

- 1) Utilizou-se bifes de 2,5 cm de espessura do músculo *Longissimus dorsi* (contrafilé), entre a 12^a costela e a 5^a vértebra lombar (lado esquerdo), sem osso e sem excesso de gordura;
- 2) O procedimento de cozimento da carne foi o mesmo apresentado para a determinação da força de cisalhamento;
- 3) Foram utilizadas 50 pessoas (provadores) independentes;
- 4) A esses provadores foi fornecida uma ficha de avaliação, que constava de uma escala hedônica de 8 pontos para maciez, suculência, sabor e avaliação geral;
- 5) A avaliação estatística dos resultados da análise sensorial foi feita através do programa SAS (1990), seguindo modelo estatístico inteiramente casualizado, envolvendo quatro tratamentos (0, 3, 6 e 9×10^6 UI vitamina D₃/an/dia) e 50 repetições (provadores). Aplicou-se a técnica de análise de variância para comparação de médias dos tratamentos, uma vez que as pressuposições para uso da técnica ANOVA foram satisfeitas.

3.6 Análise de Minerais para Sangue e Carne

A coleta de amostras de sangue foi feita no dia do abate, quando da exposição da veia jugular do animal. Nessas amostras foram observadas as concentrações de cálcio, magnésio, fósforo, sódio, potássio e glicose.

A análise da concentração de minerais nas amostras de sangue e carne foram realizadas no Laboratório de Análise de Solos da USP-ESALQ e no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA - USP), em Piracicaba, utilizando-se da metodologia de absorção atômica para a quantificação desses minerais.

A análise de glicose foi realizada no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia, na ESALQ - USP.

3.7 Análise Estatística

Utilizou-se de um delineamento inteiramente casualizado, envolvendo 4 tratamentos (0, 3, 6 e 9 milhões de UI de vitamina D₃) e 9 repetições (totalizando 36 animais). Por meio de um esquema de regressão polinomial se obteve equações que descrevessem o comportamento das variáveis: peso vivo, peso da carcaça quente, peso da carcaça resfriada, pH, área do olho do lombo, espessura da gordura, porcentagens de carcaça quente e resfriada, concentrações de cálcio, magnésio, fósforo, sódio e potássio na carne e no plasma e glicose plasmático, considerando-se os valores de cada repetição para cada tratamento. Para as variáveis força de cisalhamento, porcentagem de perdas por evaporação, perdas por gotejamento, perdas totais e análise sensorial foi adotado um esquema de parcelas subdivididas, tendo-se para as parcelas as 4 doses de vitamina D₃ (0, 3, 6 e 9 milhões de UI) e para as sub-parcelas os 3 períodos de maturação (1, 8 e 15 dias).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Características da Carcaça

Não foram encontradas diferenças significativas para as principais características da carcaça (Tabela 1).

As características de espessura da gordura (EG), espessura de gordura/100 kg carcaça resfriada (EG/100), temperatura às 0 hs (T0), porcentagem do dianteiro (PD) e porcentagem de ponta de agulha (PPA) foram significativas a 5% (Tabela 2). Observa-se que para as características EG e EG/100, esta diferença foi devida principalmente a grande variabilidade entre as EG dos animais (mínimo de 1 e máximo de 8 milímetros). Para a T0, a diferença entre os tratamentos para a tomada da temperatura inicial foi devido a grande diferença de tempo na obtenção dos resultados, onde a T0 foi considerada aquela tomada quando do abate do último animal, e assim tendo uma diferença significativa na temperatura para o primeiro animal abatido (\pm 1 hora de diferença entre a primeira e a última carcaça). Para a PD e PPA, os resultados obtidos não apresentam justificativa da sua ocorrência.

Tabela 1. Valores médios das características de carcaças de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 10 dias consecutivos antes do abate

Característica ¹	Média	CV (%)	Pr > F
PV (kg)	511,46	7,31	0,43
PCQ (kg)	265,96	6,93	0,47
RQ (%)	52,00	3,30	0,27
PCR (kg)	268,31	6,89	0,49
RF (%)	52,50	6,70	0,35
TE (kg)	126,76	7,08	0,74
PTE (%)	47,24	1,53	0,21
D5C (kg)	104,19	6,97	0,07
PA (kg)	42,64	7,90	0,23
AOL (cm ²)	61,36	10,46	0,23
AOL/100	22,95	11,34	0,51
T24 (°C)	10,30	10,13	0,23
pH0	7,04	3,21	0,81
pH24	6,12	4,44	0,17

¹ PV= peso vivo, PCQ= peso da carcaça quente, ¹RQ= rendimento quente, PCR= peso da carcaça resfriada, RF= rendimento frio, TE= traseiro especial, PTE= porcentagem do traseiro especial, D5C= dianteiro com 5 costelas, PA= ponta de agulha, AOL= área do olho do lombo, AOL/100= AOL/100 kg carcaça resfriada, T24= temperatura 24 hs, pH0= pH 0 hs, pH24= pH 24 hs.

Segundo Scanga et al. (2001), Berry et al. (2000), Enright et al. (2000a,b), Montgomery et al. (2002; 2000a,b), Karges et al. (1999a,b,c,d), Meredith & Morgan (1999), Morgan et al. (1999), Enright et al. (1998a,b) e Sparks et al. (1998), o fornecimento de altas doses de vitamina D₃ fez com que os animais tivessem menor PV final e ganho de peso diário (GPD), devido a redução da ingestão de alimento (indicando início de intoxicação

pelos níveis supranutricionais de vitamina D₃ fornecidos). O não fornecimento, ou doses menores de vitamina D₃ não afetaram as variáveis estudadas, nem as características da carcaça. Entretanto para Vargas et al. (1999a,b) o tratamento com vitamina D₃ sozinho ou em conjunto com a vitamina E resultou em animais mais pesados, mas o GPD foi menor para animais tratados com vitamina D₃ e a ingestão de matéria seca (IMS) foi similar para todos os tratamentos.

Apesar dos resultados não apresentarem diferença significativa entre as doses estudadas, observa-se que o pH₂₄ apresentou um valor numericamente alto, o que concorda com Karges et al. (1999), que também observaram um pH final elevado. Já, Karges et al. (2001), relataram que o pH₂₄ de animais tratados com vitamina D₃ foram menores do que em animais controle.

Tabela 2. Média dos quadrados mínimos (LSM) e erro padrão (EP) das características de carcaça com significância de 5% para animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ (dose X 10⁶ UI/an/dia) por 10 dias consecutivos antes do abate

Dose	Características ¹									
	EG(cm ²)		EG/100		T0 (°C)		PD(%)		PPA(%)	
	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE
0	3,38	0,66	1,26	0,24	32,09	0,43	38,66	0,30	15,84	0,27
3	3,88	0,66	1,39	0,24	34,08	0,43	39,55	0,30	15,78	0,27
6	5,60	0,59	2,13	0,21	33,86	0,39	37,96	0,27	16,62	0,24
9	3,40	0,59	1,26	0,21	33,21	0,39	39,24	0,27	15,33	0,24

¹EG= espessura da gordura, EG/100= EG/100 kg carcaça resfriada, T0=temperatura 0 hs, PD= porcentagem do dianteiro, PPA= porcentagem de ponta de agulha.

LSM = Média dos quadrado mínimos.

SE = Erro padrão.

Tabela 3. Contrastes lineares para as características de carcaça de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 10 dias consecutivos antes do abate

Características ¹	Contrastes Significativos			
	Efeito Geral	Efeito Grau 1	Efeito Grau 2	Efeito Grau 3
PV (kg)	NS	NS	NS	NS
PCQ (kg)	NS	NS	NS	NS
RQ (%)	NS	NS	NS	NS
PCR (kg)	NS	NS	NS	NS
RF (%)	NS	NS	NS	NS
TE (kg)	NS	NS	NS	NS
PTE (%)	NS	NS	NS	NS
D5C (kg)	NS	NS	NS	*
PD (%)	**	NS	NS	**
PA (kg)	NS	NS	NS	NS
PPA (%)	**	NS	*	*
AOL (cm ²)	NS	NS	NS	NS
AOL/100	NS	NS	NS	NS
EG (cm)	*	NS	*	NS
EG/100	*	NS	*	*
T0 (°C)	*	NS	**	NS
T24 (°C)	NS	NS	NS	NS
pH0	NS	NS	NS	NS
pH24	NS	*	NS	NS

¹ PV= peso vivo, PCQ= peso da carcaça quente, RQ= rendimento quente, PCR= peso da carcaça resfriada, RF= rendimento frio, TE= traseiro especial, PTE= porcentagem do traseiro especial, D5C= dianteiro com 5 costelas, PD= porcentagem do dianteiro, PA= ponta de agulha, PPA= porcentagem de ponta de agulha, AOL= área do olho do lombo, AOL/100= AOL/100 kg carcaça resfriada, EG= espessura da gordura, EG/100= EG/100 kg carcaça resfriada, T0=temperatura 0 hs, T24= temperatura 24 hs, pH0= pH 0 hs, pH24= pH 24 hs.

^a NS= não significativo (P>0,05).

* P(<0,05).

** P(<0,01).

4.2 Teor de Glicose no Plasma

A glicose plasmática (Tabela 4) não apresentou diferença significativa ($P>0,05$) entre as doses de vitamina D₃ estudadas. Observa-se pequena queda na concentração de glicose plasmática para a dose 6×10^6 UI/an/dia, enquanto que para as demais doses houve um ligeiro aumento.

Estes dados são semelhantes aos encontrados por Swanek et al. (1999a,b; 1997).

Tabela 4. Média dos quadrados mínimos (LSM) e erro padrão (EP) do teor de glicose para animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 10 dias consecutivos antes do abate

Dose (x 10 ⁶ UI/an/dia)	Glicose (mg/dL)	
	LSM	EP
0	255,10	42,85
3	266,96	41,20
6	209,57	39,25
9	273,53	36,88

Média geral= 250,21; CVgeral= 46,51%; Pr>Fgeral=0,74

LSM = Média dos quadrado mínimos

SE = Erro padrão

4.3 Concentração de Minerais no Plasma

Para as concentrações de cálcio, sódio, potássio e magnésio no plasma (Tabela 5) não foram encontradas diferenças ($P>0,05$) entre as doses estudadas.

Observa-se nas doses 3 e 9×10^6 UI/an/dia uma elevação da concentração de cálcio em apenas 6,98%, o que não foi alto o suficiente para se ter uma diferença marcante na concentração de cálcio de animais tratados com vitamina D₃. Este resultado é o contrário dos apresentados por Karges et al. (2001), Kotrla et al. (2001), Scanga et al. (2001), Rentfrow et al. (2001), Berry et al. (2000), Enright et al. (2000a,b), Morgan & Gill (2000), Rider et al. (2000), Hill et al. (1999), Karges et al. (1999a,b,c,d), Montgomery et al. (1999a,b; 1998),

Vargas et al. (1999a,b), Enright et al. (1998a,b), Sparks et al. (1998), que observaram um aumento significativo do cálcio plasmático. Segundo Montgomery et al. (2000a,b), a concentração de cálcio plasmático aumentou de 150 a 170 vezes, quando do fornecimento de 5,0 ou 7,5 milhões de UI de vitamina D₃. Para Swanek (1999a,b), a concentração de cálcio plasmático aumentou de 8-48%, devido principalmente ao efeito da vitamina D₃ no metabolismo de cálcio, aumentando a reabsorção intestinal e a saída de cálcio de depósitos encontrados nos ossos. Ainda, em 1997, Swanek et al. observaram uma elevação do cálcio plasmático (de 9,23 mg/dL para 10,39 mg/dL) em animais suplementados com vitamina D₃.

Tabela 5. Média dos mínimos quadrados, média geral, coeficiente de correlação e significância das concentrações de minerais no plasma de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 10 dias consecutivos antes do abate

Mineral	Dose (x 10 ⁶ UI/na/dia)				Geral		
	0	3	6	9	Média	CV	Pr>F
Cálcio (mg/dL)	10,56	11,30	10,79	11,28	10,99	6,65	0,11
Sódio (mg/dL)	196,10	203,11	194,31	203,80	199,30	5,22	0,13
Potássio (mg/dL)	22,18	24,48	22,54	22,19	22,79	20,47	0,71
Magnésio (mg/dL)	1,88	2,01	1,89	1,95	1,93	13,06	0,69

Uma das explicações para o não aumento da concentração de cálcio plasmática é que, segundo Scanga et al. (2001), a abundância de vitamina D₃ fornecida antes do abate pode provocar nos animais uma inibição na síntese e absorção de cálcio, devido ao efeito de duas enzimas (Ca⁺²-25-hidroxilase e 1 α -hidroxilase) que são essenciais na formação da 1,25(OH)₂-vitamina D₃. Ou ainda que, a vitamina D₃ não foi convertida nas formas metabólicas (25-hidroxivitamina D₃ e 1,25(OH)₂-vitamina D₃), reduzindo então a absorção de cálcio, portanto, reduzindo as concentrações de cálcio sérico. Uma outra hipótese levantada por Wiegand et al. (1998, 2001) é sobre a forma de fornecimento de vitamina D₃ para os

animais. Existe a hipótese de que o fornecimento por cápsulas de gelatina (*bolus*) seja o método mais eficiente do que quando feito junto do concentrado, devido a passagem direta para o trato digestivo. Segundo Scanga et al. (2001) o fornecimento de vitamina D₃ por via oral através de *bolus* foi efetivo, como resultado da elevação da concentração de cálcio plasmático e melhora na maciez da carne.

Para a concentração de magnésio é esperada uma redução na sua concentração, quando pelo aumento da dose de vitamina D₃, o que não foi observado em nossos resultados, que mostram não haver diferença entre as doses estudadas, mas com uma pequena tendência das diferentes doses de vitamina D₃ em aumentar a concentração de magnésio. Nossos resultados são contrários aos relatados por Swanek et al. (1997), que observaram uma redução do magnésio plasmático (26,6%) e por Karges et al. (1999a,b,c,d), que também observaram uma redução na concentração de magnésio plasmático (com a menor concentração ocorrendo com a dose 6×10^6 UI/na/dia. Entretanto, segundo Hill et al. (1999), novilhos tratados com $7,5 \times 10^6$ UI de vitamina D₃ por um período de 10 dias antes do abate apresentaram pouca diferença nas concentrações de cálcio, magnésio e fósforo plasmático.

Assim podemos concluir que, a suplementação de vitamina D₃ fornecida aos animais não foi eficaz para aumentar a concentração de cálcio plasmático (provocar uma hipercalcemia) e assim demonstrar a efetividade da suplementação da vitamina D₃ em manipular a concentração de cálcio, magnésio, sódio e potássio circulante.

4.4 Concentração de Minerais no Músculo

Para as concentrações de cálcio, sódio, potássio e magnésio no músculo (Tabela 6) não foram encontradas diferenças ($P > 0,05$) entre as doses estudadas.

Observa-se que apenas para o potássio todas as doses testadas forma superiores ao da dose controle. O mesmo efeito foi encontrado para a concentração de magnésio muscular, que apresentou aumento linear quanto a dose de vitamina D₃ oferecida.

Tabela 6. Média dos mínimos quadrados, média geral, coeficiente de correlação e significância das concentrações de minerais no plasma de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 10 dias consecutivos antes do abate

Mineral	Dose (x 10 ⁶ UI/na/dia)				Geral		
	0	3	6	9	Média	CV	Pr>F
Cálcio (µg/g)	122,75	122,75	121,20	125,40	123,06	9,58	0,88
Fósforo (g/100g)	0,66	0,67	0,67	0,71	0,68	7,74	0,21
Sódio (g/100g)	0,16	0,15	0,14	0,13	0,14	16,70	0,08
Potássio (g/100g)	1,17	1,22	1,26	1,25	1,23	8,40	0,32
Magnésio (µg/g)	974,13	986,88	1008,10	1027,30	1001,17	7,72	0,49

^{a,b} Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem significativamente (P>0,05) pelo teste de Tukey.

Estes resultados diferem daqueles encontrados por Montgomery et al. (2002), Morgan & Gill (2000), Rider et al. (2000), Hill et al. (1999), Swanek et al. (1999a,b,c), Montgomery et al. (1998), que encontram um aumento significativo (P<0,05) na concentração de cálcio muscular.

Segundo Swanek et al. (1999) a concentração de cálcio no músculo *Longissimus* de animais tratados com vitamina D₃ aumentou de 43-50%. Este aumento da concentração de cálcio poderia aumentar a capacidade das proteases cálcio-dependentes de degradar a Troponina-T em um componente de 30 kDa no tempo de maturação de 14 dias, resultando em carne macia. Como nos resultados não houve efeito das doses de vitamina D₃ sobre a concentração de cálcio muscular, espera-se que neste experimento não haja ou ocorra pouco amaciamento da carne, nos diferentes níveis de vitamina D₃, devido a falta ou reduzida proteólise, através da não ativação da proteases cálcio dependentes.

4.5 Perdas por Evaporação (PE)

Não houve efeito da dose de vitamina D₃ e tempo de maturação sobre as PE (Tabela 7). Observa-se apenas uma pequena tendência para a dose 6x10⁶ UI/an/dia e o tempo de maturação de 15 dias, apresentarem os menores valores para as PE. Para o estudo do efeito "sliced" em relação a dose e o tempo de maturação não se observou diferença (NS) entre as doses de vitamina D₃ nos diferentes períodos de maturação, mas um efeito significativo (P<0,01) para o tempo de maturação dentro da dose controle (0x10⁶ UI/an/dia), que resultou no maior valor de PE.

Tabela 7. Médias dos quadrados mínimos das perdas por evaporação (%) e efeito "sliced" em relação ao tratamento, tempo de maturação e a interação tratamento X tempo de maturação em carcaças de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 10 dias consecutivos antes do abate

Maturação (dias)	Dose (x 10 ⁶ UI/an/dia)				Média	Ef. Sliced Pr>F
	0	3	6	9		
1	13,13	11,59	9,40	13,34	11,86	NS
8	16,38	12,53	12,41	11,48	13,20	NS
15	9,91	8,33	9,20	11,82	9,81	NS
Média	13,14	10,81	10,33	12,21		
Ef. Sliced	Pr>F	**	NS	NS	NS	

Média geral= 11,59; CVgeral= 34,23%; Pr>Fgeral=0,17

^a NS= não significativo (P>0,05)

* P(<0,05)

** P(<0,01)

4.6 Perdas por Gotejamento (PG)

Para as PG (Tabela 8) houve um efeito de dose ($P < 0,01$) em relação ao tempo de maturação, onde a dose 6×10^6 UI/an/dia resultou na menor PG encontrada. Para o tempo de maturação houve uma tendência da menor PG ser aquela ao dia 1 de maturação, mas observou-se que quanto maior o tempo de maturação maior a PG. Para o estudo do efeito "sliced" em relação a dose e o tempo de maturação, foi observado uma diferença significativa para a dose 0×10^6 UI/an/dia ($P < 0,05$) e para a dose 9×10^6 UI/an/dia ($P < 0,01$), refletidas nos resultados de maiores PG. Houve também uma diferença significativa ($P < 0,05$) para o tempo de maturação de 15 dias, que também apresentou o maior valor para as PG.

Tabela 8. Médias dos quadrados mínimos de perdas por gotejamento (%) e efeito "sliced" em relação ao tratamento, tempo de maturação e a interação tratamento X tempo de maturação em carcaças de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 10 dias consecutivos antes do abate

Maturação (dias)	Dose ($\times 10^6$ UI/an/dia)				Média	Ef. Sliced Pr>F
	0	3	6	9		
1	9,25	9,99	8,07	9,33	9,16	NS
8	10,99	10,77	10,16	11,51	10,86	NS
15	11,83	10,73	9,30	12,02	10,97	*
Média	10,69	10,50	9,18	10,95		
Ef. Sliced	Pr>F	*	NS	NS	**	

Média geral= 10,30; CV= 19,27%; Pr>F=0,0001

^a NS= não significativo ($P > 0,05$)

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Karges et al. (2001), Enright et al. (1998), onde animais suplementados com vitamina D₃ apresentaram maior capacidade de retenção de água e menor porcentagem nas perdas por gotejamento, o que diretamente influenciaram em menor força de cisalhamento (FC), e maior maciez.

4.7 Perdas totais (PT)

Para as PT (Tabela 9) houve um efeito de dose ($P < 0,05$) em relação ao tempo de maturação, onde a dose 6×10^6 UI/an/dia resultou na menor PT encontrada. Para o tempo de maturação não foi encontrada uma tendência para a menor PT, sendo que para as doses 0 e 3×10^6 UI/an/dia a menor PT ocorreu aos 15 dias maturação, e para as doses 6 e 9×10^6 UI/an/dia a menor PT ocorreu ao 1 dia de maturação. Para o estudo do efeito "sliced" em relação a dose e o tempo de maturação, foi observado uma diferença significativa para a dose 0 e 6×10^6 UI/an/dia ($P < 0,05$), onde foram encontrados a maior e a menor PT. Houve também uma diferença significativa ($P < 0,05$) para o tempo de maturação aos 1 e 15 dias, que apresentaram o maior valor para as PT.

Tabela 9. Médias dos quadrados mínimos de perdas totais (%) e efeito "sliced" em relação ao tratamento, tempo de maturação e a interação tratamento X tempo de maturação em carcaças de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 10 dias consecutivos antes do abate

Maturação (dias)	Dose (x 10 ⁶ UI/an/dia)				Média	Ef. <i>Sliced</i> Pr>F
	0	3	6	9		
1	22,39	21,57	17,46	22,67	21,02	*
8	27,38	23,29	22,57	22,99	24,06	NS
15	21,74	19,07	18,50	23,84	20,78	*
Média	23,83	21,31	19,51	23,17		
Ef. Pr>F	*	NS	*	NS		

Média geral= 21,89; CV= 18,58%; Pr>F=0,0123

^a NS= não significativo ($P > 0,05$); * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

4.8 Força de Cisalhamento (FC)

Para a FC (Tabela 10) houve um efeito de dose ($P < 0,01$) em relação ao tempo de maturação, onde a dose 0×10^6 UI/an/dia resultou na menor FC encontrada.

Em relação ao tempo de maturação foi encontrada uma tendência de redução, onde quanto maior o tempo de maturação, menor FC encontrada. Assim observamos um efeito positivo da maturação sobre a FC como seria esperado. Para o estudo do efeito "sliced" em relação a dose e o tempo de maturação, foi observado uma diferença significativa para todas as doses estudadas ($P < 0,01$). Houve também uma diferença significativa ($P < 0,01$) para o tempo de maturação ao 1 dia, que apresentou o maior valor para a FC.

Tabela 10. Médias dos quadrados mínimos de força de cisalhamento (Kg) e efeito "sliced" em relação ao tratamento, tempo de maturação e a interação tratamento X tempo de maturação em carcaças de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 10 dias consecutivos antes do abate

Maturação (dias)	Dose ($\times 10^6$ UI/an/dia)				Média	Ef. <i>Sliced</i> Pr>F
	0	3	6	9		
1	4,92	5,56	4,98	5,69	5,29	**
8	3,67	4,14	4,03	4,19	4,01	NS
15	2,87	3,11	3,02	3,38	3,09	NS
Média	3,82	4,27	4,01	4,42		
Ef. <i>Sliced</i>	Pr>F	**	**	**	**	**

Média geral= 4,14; CV= 13,22%; Pr>F= 0,0001

^a NS= não significativo ($P > 0,05$)

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

Dessa maneira conclui-se que, nesses resultados o fornecimento de vitamina D₃ não foi efetivo para promover o amaciamento da carne. Entretanto o melhor efeito no amaciamento da carne foi resultado do tempo de maturação. Esses resultados se assemelham aos encontrados por Scanga et al. (2001), Rentfrow et al. (2001), Wiegand et al. (1998, 2001), Berry et al. (2000), Ribeiro (2000), Hill et al. (1999), SPARKS et al. (1998) que não observaram uma redução na força de cisalhamento, mesmo que a suplementação com vitamina D₃ elevasse a concentração de cálcio plasmático. Resultados apresentados por Karges et al. (2001), Kotrla et al. (2001), Foote et al. (2001), Montgomery et al. (2001a,b; 2000a,b; 1988), Boleman et al. (2000), Morgan & Gill (2000), Rider et al. (2000), Karges et al. (1999a,b,c,d), Meredith & Morgan (1999), MORGAN et al. (1999), Vargas et al. (1999a,b), Swanek (1999a,b,c), Beitz et al. (1997) e Swanek et al. (1997), que encontraram amaciamento da carne, pelo uso da suplementação com vitamina D₃, entre 6,6-50%, diferem dos encontrados.

Segundo Montgomery et al. (2002) e Karges et al. (1999a), a suplementação com vitamina D₃ deve ser efetiva no amaciamento da carne, quando a carne dos animais forem duras e com pouco ou nenhum impacto sobre a carne de animais que tenham carne macia. Em nossos resultados observamos que mesmo em animais de carne supostamente menos macia, a suplementação não resultou em amaciamento da carne, diferindo assim do resultado encontrado pelos referidos pesquisadores.

4.9 Análise Sensorial

Para as características estudadas na análise sensorial (Tabela 11), somente a suculência não apresentou diferença significativa ($P>0,05$), quanto a dose de vitamina D₃ utilizada.

Para a característica de maciez, a dose 9×10^6 UI/an/dia apresentou o pior resultado (carne com maior maciez sensorial, menos macia) e, o melhor resultado foi aquele resultante

da dose 3×10^6 UI/an/dia. Para sabor o melhor resultado foi aquele conseguido com a dose 3×10^6 UI/an/dia e o pior para as demais doses de vitamina D₃. Numa avaliação geral, a pior avaliação foi para a dose 0×10^6 UI/an/dia e a melhor avaliação para a dose 3×10^6 UI/an/dia.

Tabela 11. Valores médios das características de sabor, suculência, maciez e análise geral da análise sensorial realizada em carcaças de animais *Bos indicus* suplementados com vitamina D₃ por 10 dias consecutivos antes do abate

Característica ¹	Dose (X 10 ⁶ UI/an/dia)				Média geral	CV(%)
	0	3	6	9		
Maciez	5,38 ^{ab}	4,88 ^b	5,10 ^{ab}	5,86 ^a	5,31	29,18
Sabor	5,44 ^a	4,32 ^b	5,40 ^a	5,18 ^a	5,09	27,90
Suculência	4,72 ^a	4,14 ^a	4,76 ^a	4,96 ^a	4,65	34,42
Geral	5,44 ^a	4,56 ^b	5,32 ^a	5,26 ^{ab}	5,15	26,53

¹ 8= extremamente duro, seco, fraco, desgostei extremamente; 1= extremamente macio, suculento, intenso, gostei extremamente.

^{a,b} Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem significativamente ($P > 0,05$) pelo Teste de Tukey.

Assim, pode-se concluir que, na análise sensorial os melhores resultados foram aqueles obtidos com a dose 3×10^6 UI/an/dia. De uma maneira geral a suplementação com vitamina D₃ melhora as características sensoriais da carne. Esses resultados se assemelham aos encontrados por Swanek (1999 a,b), que mostraram um efeito positivo da suplementação com vitamina D₃ sobre as características sensoriais da carne. Outros pesquisadores como Karges et al. (2001), Montgomery et al. (2000a,b) e Rider et al. (2000) não detectaram o efeito da suplementação na análise sensorial.

5 CONCLUSÕES

Para o presente trabalho podemos concluir que:

- Não foram encontradas diferenças significativas para as principais características da carcaça. As características de espessura da gordura (EG), espessura de gordura/100 kg carcaça resfriada (EG/100), temperatura à 0 hs (T0), porcentagem do dianteiro (PD) e porcentagem de ponta de agulha (PPA) foram significativas a 5%;

- A glicose plasmática não apresentou diferença significativa ($P>0,05$) entre as doses de vitamina D₃ estudadas;

- Para as concentrações de cálcio, sódio, potássio e magnésio no plasma não foram encontradas diferenças ($P>0,05$) entre as doses estudadas;

- Para as concentrações de cálcio, sódio, potássio e magnésio no músculo não foram encontradas diferenças ($P>0,05$) entre as doses estudadas;

- Não houve efeito da dose e tempo de maturação sobre as PE, apenas uma pequena tendência para a dose 6×10^6 UI/an/dia e o tempo de maturação de 15 dias, apresentarem os menores valores para as PE;

- Para as PG houve um efeito de dose ($P<0,01$) em relação ao tempo de maturação, onde a dose 6×10^6 UI/an/dia resultou na menor PG encontrada, havendo também uma diferença significativa ($P<0,05$) para o tempo de maturação de 15 dias, que também apresentou o maior valor para as PG;

- Para as PT houve um efeito de dose ($P<0,05$) em relação ao tempo de maturação, onde a dose 6×10^6 UI/an/dia resultou na menor PT encontrada. Para o tempo de maturação não foi encontrada uma tendência para a menor PT, sendo que para as doses 0 e 3×10^6

UI/an/dia a menor PT ocorreu aos 15 dias maturação, e para as doses 6 e 9×10^6 UI/an/dia ao dia 1 de maturação;

- Para a FC houve um efeito de dose ($P < 0,01$) em relação ao tempo de maturação, onde 0×10^6 UI/an/dia resultou na menor FC encontrada. Em relação ao tempo de maturação foi encontrada uma tendência de redução, onde quanto maior o tempo de maturação, menor a FC;

- Para as características estudadas na análise sensorial, a dose 3×10^6 UI/an/dia afetou positivamente as características maciez, sabor e avaliação geral. Para a succulência não foi encontrada diferença significativa ($P > 0,05$), quanto às doses utilizadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. **Guidelines for cookery and sensory evaluation of meat**. Illinois: National Livestock and Meat Board, 1978. 24p.
- ANDRIGUETTO, J.M.; MINARDI, I.; PERLY, L.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J.S.; SOUZA, G.A.; BONA FILHO, A. **Nutrição animal**. 4.ed. São Paulo:Nobel, 1981. 1v.
- BEITZ, D. TRENKLE, A; PARRISH, F.; MONTEGOMERY, J.; HORST, R. Feeding of vitamin D₃ is a potential method to improve tenderness of beef. **1997 Dairy Report**, Iowa State University, DSL 145, 4p., 1997.
<http://www.extension.iastate.edu/Pages/dairy/report97/products/dsl-145.pdf> (21 jan. 2002)
- BERRY, B.A.; GILL, DR.; BALL, R. Effects of feeding vitamin D on feedlot performance, carcass traits, and meat tenderness of finishing steers. **2000 Animal Science Research Report**, Oklahoma State University, p.98-103, 2000.
<http://www.ansi.okstate.edu/research/2000rr/19.htm> (22 jan. 2002)
- BLEZINGER, S.B. Small vitamin imbalances can be critical. **Walden Farms – Cattle Today online**, June 2001. <http://cattletoday.com/archive/2001/june/CT153shtml> (20 dez. 2001)
- BOLEMAN, C.T.; RAMSEY, W.S.; PELL, R.K.; SAVELL, J.W. Mechanisms of vitamin D₃ on tenderness of lamb. **Sheep and Goat, Wool and Mohair Combined Research Reports**, p.10-18, September 2000.
<http://sanangelo.tamu.edu/genetics/shgrep00.htm>. (20 dez. 2001)

- BONDI, A.A. **Nutricion animal**. Zaragoza:Acribia, 1988. p.244-250.
- DIKEMAN, M.E.; GREEN, R.D.; WULF, D.M. Effects of genetics vs management on beef tenderness. Vitamin D supplementation. **Beef Improvement Federation**, 6p., 2000.
http://www.beefimprovement.org/BIFfact_tenderness.html. (20 dez. 2001)
- ENRIGHT, K.L.; ANDERSON, B.K.; ELLIS, M.; McKEITH, F.K.; BERGER, L.L.; BAKER, D.H. The effects of feeding high levels of vitamin D₃ on pork quality. **Journal of Animal Science**, v.76, suppl. 1, p.149, 1998.
- ENRIGHT, K.L.; MILLER, K.D.; BERGER, L.L.; McKEITH, F.K.; LYNCH, G.; ELLIS, M. Influence of level of vitamin E and level and time of feeding of vitamin D₃ on growth, carcass, and pork quality characteristics in pigs. **Journal of Animal Science**, v.78, suppl. 2, p.49-50, 2000.
- ENRIGHT, K.L.; ELLIS, M.; McKEITH, F.K.; BERGER, L.L.; BAKER, D.H.; ANDERSON, B.K. The influence of level of dietary vitamin D₃. Pork Quality. **Porknet-Pork on The Information Superhighway**, 10p., 2000.
<http://poknet.outreach.uiuc.edu/fulltext.cfm?section=2&documentID=110> (20 dez. 2001)
- FELÍCIO, P.E. *A carcaça Nelore para o desossador*. In: SEMINÁRIO MANAH “ O NELORE PARA CARNE”, 5., Brotas, 1995. *Anais*. Brotas: Fazenda Mundo Novo, 1995. p.18-34.
- FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **ANUALPEC 2001**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo, 2001. 359p.
- FOOTE, M.R.; BEITZ, D.C.; HORST, R.L.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H.; PARRISH JR., F.C. Use of vitamin D₃ and its metabolites to improve beef tenderness. **2001 Beef Research Report**, Iowa State University, A.S. Leaflet R 1765, p.133-137, 20001.

<http://www.extension.iastate.edu/Pages/ansci/beefreports/asl1765.pdf> (21 jan. 2002)

GAMAN, P.M.; SHERRINGTON, K.B. **Science of food:** an introduction to food science, nutrition and microbiology. 2.ed. Oxford:Pergamon Press, 1981. p. 01-103.

HILL, G.M.; BRITO, G.; PRINGLE, T.D.; WILLIAMS, S.E. Performance, plasma Ca, P and Mg, carcass characteristics, and meat tenderness in beef steers fed high levels of vitamin D3. **Journal of Animal Science**, v.77, suppl. 1, p.18-19, 1999.

KARGES, K.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D.R. Effects of feeding vitamin D on feed intake, carcass characteristics, and meat tenderness of beef steers. **1999 Animal Science Research Report**, Oklahoma State University, p.134-142, 1999a.

<http://www.ansi.okstate.edu/research/1999rr/23.htm> (22 jan. 2002)

KARGES, K.; OWENS, F.N.; GILL, D.R.; MORGAN, J.B. Effects of supplemental vitamin D levels on feed intake and blood minerals of yearling steers. **1999 Animal Science Research Report**, Oklahoma State University, p.134-142, 1999b.

<http://www.ansi.okstate.edu/research/1999rr/24.htm> (22 jan. 2002)

KARGES, K.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D.R. Effects of supplemental vitamin D on blood parameters, calpastatin activity and pH of steer carcasses. **1999 Animal Science Research Report**, Oklahoma State University, p.143-146, 1999c.

<http://www.ansi.okstate.edu/research/1999rr/25.htm> (22 jan. 2002)

KARGES, K.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D.R. Effects of feeding vitamin D3 on carcass characteristics of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.77, suppl. 1, p.172-173, 1999d.

KARGES, K.; BROOKS, J.C.; GILL, D.R.; BREAZILE, J.E.; OWENS, F.N.; MORGAN, J.B. Effects of supplemental vitamin D3 on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and

muscle properties of beef steers. **Journal of Animal Science**, v.79, n.11, p.2844-2850, 2001.

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

MAYNARD, L.A.; LOOSLI, J.K.; HINTZ, H.F.; WARNER, R.G. **Animal nutrition**, 7.ed. New York:McGraw-Hill, 1979. 602 p.

MERCK. Calcium Metabolism. **The Merck Manual**, Section, 2, Chapter 12, 12p., 2001.

<http://www.merck.com/pubs/mmanual/section2/chapter12/12.htm> (20 dez. 2001)

MEREDITH, G.; MORGAN, B. Effects of vitamin D₃ on beef carcass characteristics. **1999 Research Highlights**, Oklahoma Panhandle Research & Extension Center, p.40, 1999.

<http://www.org.okstate.edu/goodwell/Publications/Reseach%20Highlights%20PDF.pdf> (20 dez. 2001)

MONTGOMERY, J.L.; PARRISH, JR., F.C.; BEITZ, D.C.; HORST, R.L.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H. Feeding supplemental dietary vitamin D₃ to improve beef tenderness. **1998 Beef Research Report**, Iowa State University, A.S. Leaflet R 1549, p.3, 1998.

<http://www.extension.iastate.edu/Pages/ansci/beefreports/meats98.html> (21 jan. 2002)

MONTGOMERY, J.L.; CARR, M.A.; KERTH, C.R.; HILTON, G.G.; BEHRENDTS, L.L.; BEHRENDTS, E.R.; MILLER, M.F. Dietary modifications using vitamin D₃ to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v.77, suppl. 1, p.45, 1999a.

MONTGOMERY, J.L.; HORST, R.L.; HOY, D.A.; CARR, M.A.; HILTON, G.G.; PRICE, B.D.; MILLER, M.F. Effects of dietary modifications using vitamin D₃ on calcium content

and vitamin D residues in tissue and liver. **Journal of Animal Science**, v.77, suppl. 1, p.173, 1999b.

MONTGOMERY, J.L.; PARRISH, JR., F.C.; BEITZ, D.C.; HORST, R.L.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H. The use of vitamin D₃ to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v.78, n.10, p.2615-2621, 2000a.

MONTGOMERY, J.L.; GENTRY, J.G., BEHREND, L.L.; BEHREND, E.R.; HILTON, G.G.; GALYEAN, M.; BLANTON, J.R.; BARHAM, A.; BARHAM, B.; MILLER, M.F. Supplemental vitamin D₃ improves beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v.78, suppl. 1, p.159, 2000b.

MONTGOMERY, J.L.; MORROW JR., MILLER, M.F. Characterization of muscle degradation from vitamin D₃ supplementation of feedlot steers using a muscle cell culture system. **Journal of Animal Science**, v.78, suppl. 1, p.159, 2000c.

MONTGOMERY, J.L.; MORROW JR., K.J.; HORST, R.L.; BLANTON JR., J.R.; MILLER, M.F. Subcellular differences in muscle calcium and phosphorus due to vitamin D₃ supplementation of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.79, suppl. 2, p.1, 2001a.

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

<http://www.asft.ttu.edu/cfire/reports/CFIRE%20report%20vitD.pdf> (22 jan. 2002)

MONTGOMERY, J.L.; CARR, M.A.; KERTH, C.R.; HILTON, G.G.; PRICE, B.P.; GALYEAN, M.L.; HORST, R.L.; MILLER, M.F. Effect of vitamin D₃ supplementation level on the postmortem tenderization of beef from steers. **Journal of Animal Science**, v.80, n.4, p.971-981, 2002.

- MORGAN, J.B. Pre-harvest nutritional management. **Cattlemen's College, Consumer Demand Strategies**, Denver, Colorado, 4p., July 17, 1998a.
<http://www.beef.org> (20 dez. 2001)
- MORGAN, J.B. Vitamins D₃ and E. **1998 Feed Composition Guide**, 2p., 1998b.
<http://content.com/feedcomp/feed983.htm> (22 jan. 2002)
- MORGAN, J.B.; DOLEZALL, H.G.; GILL, D.R. Vitamin D supplementation improves beef tenderness. **Nebraska Veterinary and Biomedical Sciences Newsletter**, v.28, n.10, p.4, October 1999.
<http://nvdls.unl.edu/newslet99/oct99.htm> (20 dez. 2001)
- MORGAN, J.B.; GILL, D.R. Influencing beef tenderness through manipulation of calcium metabolism with vitamin D. **Journal of Animal Science**, v.78, suppl. 1, 23p., 2000.
- NAKAMURA, R. Factors associated with postmortem increase of extractable Ca in chicken breast muscle. **Journal of Food Science**, v.38, n.7, p.1113-1114, 1973.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 76-77p.
- NIHCC. Facts about dietary supplements: Vitamin D. **NIH Clinical Center**, National Institutes of Health, 10p., 2001.
<http://www.cc.nih.gov/cc/supplements/vitd.html> (20 dez. 2001)
- RENTFROW, G.K.; BERGER, L.; CARR, T.; McKEITH, F.; BREWER, M.S.; BERG, E.P. The effects of feeding elevated levels of vitamins D₃ and E on beef longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, v.79, suppl. 2, p.56, 2001.

RIBEIRO, F.G. Características de carcaça e qualidade da carne de tourinhos alimentados com dietas de alta energia. Pirassununga, 2000. 70p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

RIDER, N.C.; MIKEL, W.B.; BEHREND, J.M.; SCALETTI, R.W.; XIONG, Y.L.; AARON, D.K. Effects of dietary vitamin D₃ supplementation of cull beef cows on longissimus and semitendinosus muscle tenderness. **Journal of Animal Science**, v.78, suppl. 2, p.16, 2000.

ROCHE. Vitamin D. **Roche Vitamins: vitamin D in animal nutrition**, 8p., 2000.

<http://www.roche.com/vitamins/what/anh/vits/vitd.html> (20 dez. 2001)

SAS *statistical system user's guide*: Stat, Version 6, 4.ed., Cary: SAS Institute, 1990. v.2.

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

SPARKS, J.C.; WIEGAND, B.R.; PARRISH JR., F.C.; EWAN, R.C.; HORST, R.L.; TRENKLE, A.H.; BEITZ, D.C. Effects of short term feeding of vitamin D₃ on pork quality. **1998 Beef Research Report**, Iowa State University, A.S. Leaflet R1613,p.3, 1998.

<http://www.extension.iastate.edu/Pages/ansci/swinereports/asl-1613pdf> (21 jan. 2002)

STATON, T.L. Vitamins for finishing Cattle. **1998 Feed Composition Guide**, 3p., 1998.

<http://content.com/feedcomp/feed992.htm> (22 jan. 2002)

SWANEK, S.S.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; DOLEZAL, H.G.; GILL, D.R. Effects of supplemental vitamin D₃ on meat tenderness. **1997 Animal Science Research Report**, Oklahoma State University, p.73-78, 1997.

<http://www.ansi.okstate.edu/research/1997rr/014.htm> (22 jan. 2002)

SWANEK, S.S.; ELAM, N.A.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D.R.; STRASIA, C.A.; DOLEZAL, H.G.; RAY, F.K. Supplemental vitamin D₃ and beef tenderness. **1999 Animal Science Research Report**, Oklahoma State University, p.59-66, 1999a.

<http://www.ansi.okstate.edu/research/1999rr/10.htm> (22 jan. 2002)

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

SWANEK, S.S.; ELAM, N.A.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D.R.; STRASIA, C.A.; DOLEZAL, H.G.; RAY, F.K. Supplemental vitamin D₃ and beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v.77, suppl. 1, p.172, 1999c.

TAYLOR, M.A.J.; ETHERINGTON, D.J. The solubilization of myofibrillar proteins by calcium ions. **Meat Science**, v.29, n.3, p.211-219, 1991.

VARGAS, D.N.; DOWN, A.E.; WEBB, D.S.; HAN, H.; MORGAN, J.B.; DOLEZAL, H.G. Effects of dietary supplementation of feedlot steers with vitamins E and D₃ on live performance, carcass traits, shelf-life attributes and longissimus muscle tenderness. **1999 Animal Science Research Report**, Oklahoma State University, p.59-66, 1999a.

<http://www.ansi.okstate.edu/research/1999rr/11.htm> (22 jan. 2002)

VARGAS, D.N.; DOWN, A.E.; WEBB, D.S.; HAN, H.; MORGAN, J.B.; DOLEZAL, H.G. Effect of supplementing feedlot steers with vitamin D₃ and E on carcass traits, shelf-life attributes and longissimus muscle tenderness. **Journal of Animal Science**, v.77, suppl. 1, p.172, 1999b.

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

WHIPPLE, G.; KOOHMARAIE, M.; DIKEMAN, M.E.; CROUSE, J.D.; HUNT, M.C.; KLEMM, R.D. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, n.9, p.2716-2728, 1990.

WIEGAND, B.R.; THIEL, R.L.; PARRISH JR., F.C.; MORRICAL, D.G. Feeding high levels of vitamin D₃ to improve tenderness of callipyge lamb muscles. **Journal of Animal Science**, v.76, suppl. 1, p.48, 1998.

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