



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Metodologias utilizadas para avaliar as características físicas, químicas e organolépticas da carne

Leandro Sâmia Lopes

Doutor em Zootecnia – Universidade Federal de Lavras

Resumo

O comércio de carne deve apresentar grande crescimento nas próximas décadas. Com este crescimento, ocorrerão mudanças nos sistemas de criação e produção, nas pesquisas, nas políticas governamentais e de *marketing* e, bem como no comportamento do consumidor. Existem várias razões para se medir qualidade de carne. Uma delas seria a utilização em animais selecionados para que estes venham a atingir características de qualidade desejadas. Dessa maneira o desenvolvimento de técnicas que venham a comprovar e garantir as qualidades físico-químicas e organolépticas da carne bovina são de extrema importância para que se possa determinar a qualidade exigida pelo mercado consumidor. O principal objetivo de se utilizar métodos de avaliação das características relacionadas à qualidade da carne é a falta de uniformidade encontrada principalmente entre a carne bovina. Objetivou-se com esta revisão, esta revisão tem como objetivo discutir as metodologias utilizadas na determinação das características físico-químicas e organolépticas da carne bovina.

Termos para indexação: Bovinos de corte, qualidade, mercado

Methodologies used to assess the physical, chemical and organoleptic meat characteristics

Abstract

The meat trade must submit significant growth in coming decades. With this growth, there will be changes in farming systems and production in the polls, and government policies and marketing and consumer behavior. There are several reasons to measure quality of meat. One of them would be selected for use in animals that they will reach desired quality characteristics. Thus the development of techniques that may prove and guarantee the physico-chemical and organic beef are extremely important so that we can determine the quality required by the market. The main purpose of using methods of assessment of characteristics related to meat quality is lack of uniformity found mainly between the beef. The objective of this review, this review aims to discuss the methodologies used in determining the physical, chemical and organic beef.

Index Terms: Beef Cattle, quality, market

1 INTRODUÇÃO

O comércio de carne deve apresentar grande crescimento nas próximas décadas. Com este crescimento, ocorrerão mudanças nos sistemas de criação e produção, nas pesquisas, nas políticas governamentais e de *marketing* e, bem como no comportamento do consumidor.

De modo geral, as características físicas da carcaça podem ser manipuladas por meio do manejo nutricional, da idade de abate, da escolha do sistema de produção e de raças para produção de carne (Moletta & Restle, 1996), entre outros fatores.

Jorge et al. (2006) relataram que, para se assegurar a qualidade da carne, deve-se levar em consideração alguns fatores *ante mortem*, como

manejo, alimentação, sexo, idade, bem como *post mortem*, como curva de queda de pH e temperatura. Luchiari Filho (2000) colocou que esses fatores são importantes para se determinar outros parâmetros de qualidade, como cor, maciez e conservação da carne.

A qualidade da carne bovina é determinada por um conjunto de atributos extrínsecos e intrínsecos. Entre estes atributos, destacam-se as características relacionadas ao tecido gordo, tais como cor e textura; capacidade de retenção de água, rendimento e tamanho de cortes nobres; proporção entre tecido gordo e magro; qualidade nutritiva, química e histoquímica dos músculos; grau de marmoreio, assim como maciez, suculência, sabor e aroma (Warris, 2000).

Existem várias razões para se medir qualidade de carne. Uma delas seria a utilização em animais selecionados para que estes venham a atingir características de qualidade desejadas. Dessa maneira o desenvolvimento de técnicas que venham a comprovar e garantir as qualidades físico-químicas e organolépticas da carne bovina são de extrema importância para que se possa determinar a qualidade exigida pelo mercado consumidor.

O principal objetivo de se utilizar métodos de avaliação das características relacionadas à qualidade da carne é a falta de uniformidade encontrada principalmente entre a carne bovina, como por exemplo, a cor, que é uma característica determinante no momento da compra (Warris, 2000).

Diante do exposto, esta revisão tem como objetivo discutir as metodologias utilizadas na determinação das características físico-químicas e organolépticas da carne bovina.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Análise Bromatológica

Três componentes da carne são considerados substratos primários, pois influenciam diretamente na sua qualidade: Umidade, gordura e proteína.

A percentagem destes componentes e seu tipo influenciam importantes parâmetros de qualidade necessários à industrialização e determinarão a qualidade final dos produtos. Estes parâmetros são chamados de propriedades funcionais.

O teor de proteína presente nas carnes é praticamente constante, enquanto que os níveis de gordura e umidade apresentam uma grande variação. Quando os níveis de gordura aumentam, os níveis de umidade diminuem e vice-versa, havendo assim uma compensação entre esses dois constituintes (Figura 1) (Olivo e Shimokomaki, 2000).

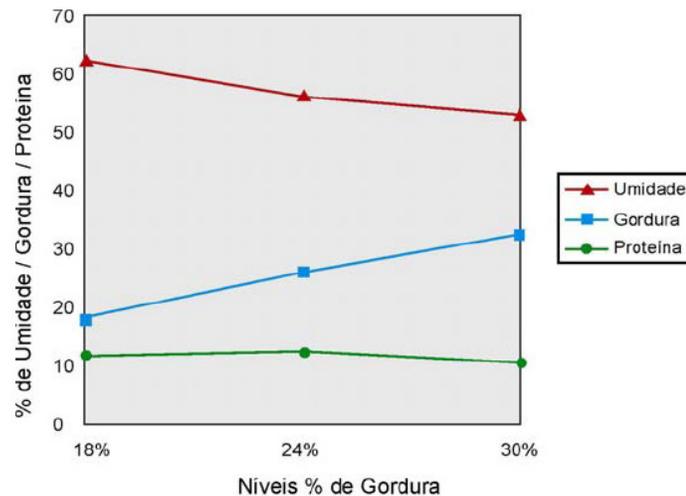


Figura 1. Variações de compensação de umidade, gordura e proteína na carne.

2.1.1 Proteínas

As proteínas são consideradas as principais responsáveis pelas características funcionais da carne. São elas que determinarão o rendimento, a qualidade, a estrutura e os atributos sensoriais (Felício, 1998).

As proteínas representam de 18 a 23% da carne, sendo classificadas como miofibrilares (55% do total), sarcoplasmática (35%) e estromáticas (3 a 5%) (Olivo e Shimokomaki, 2000).

As proteínas do estroma são geralmente referidas como as proteínas do tecido conjuntivo e fazem parte da estrutura do músculo. As principais proteínas deste grupo são os colágenos, os quais têm grande influência na qualidade da carne podendo apresentar características indesejáveis (Olivo & Olivo, 2006).

O colágeno representa somente 2% do total de proteínas do músculo, entretanto é responsável por muitas das mudanças que ocorrem na textura da carne durante o cozimento. A taxa e a extensão dessas mudanças dependem da maturidade do colágeno, bem como de fatores externos como a taxa de aquecimento, a umidade, e o procedimento durante o preparo da carne (Hadlich et al. 2006).

Há uma ligação direta entre o conteúdo de colágeno e a maciez da carne, tal relação torna-se danosa às qualidades desejáveis da carne, conforme aumenta a idade dos animais. Esse fenômeno pode ser explicado pela natureza e pela extensão das ligações entre as moléculas dessa proteína que aumentam com a idade (Bailey, 1985).

2.1.1.1 Determinação do Teor de Proteína e Colágeno

A determinação de proteína baseia-se na determinação do nitrogênio, geralmente feita utilizando o método de Kjeldahl; com digestão em ácido sulfúrico, sulfato de sódio e sulfato de cobre para realizar a decomposição da matéria orgânica, e posterior destilação do nitrogênio que foi transformado em amônia, sendo esta coletada em ácido bórico. A titulação é realizada com ácido clorídrico padrão utilizando uma mistura de vermelho e metila e azul de metileno como indicador (AOAC, 1990).

Para a determinação do colágeno, utiliza-se o aminoácido prolina como referência (Woessner Junior, 1961). Cinco gramas de carne são utilizadas, colocadas em tubo de ensaio com ml de água destilada, submetidas a banho-maria por 2 horas a 80°C. As amostras são homogeneizadas a 22.000 rpm e centrifugadas a 4.000 rpm por 15 minutos em temperatura ambiente. Adiciona-se 30 ml de HCl (6N) e 50 ml de HCl (6N) ao sobrenadante e ao sedimento respectivamente, sendo hidrolisadas a autoclave por 4 horas, 120°C e 1atm (Cross et al., 1973). Após hidrólise, as amostras são ajustadas para pH 6,0 com NaOH (2N).

Dois ml de cada fração são transferidos para um tubo de ensaio. Em seguida, 1,0 ml de Cloramina-T é adicionado, permanecendo em repouso por 20 minutos em temperatura ambiente. Adiciona-se em seguida, 1 ml de cor, permanecendo em banho-maria durante 15 minutos em 60°C. Após resfriamento realiza-se a leitura no comprimento de onda 560 nm, podendo ser calculado o colágeno total, termossolúvel e insolúvel através de equações, onde o fator de correção da hidroxiprolina para o colágeno é de 7,14, pois assume-se que a molécula de colágeno apresenta 14% de hidroxiprolina (Woessner Junior, 1961).

2.1.2 Umidade

A água representa de 65 a 80% do total da massa muscular e tem importante função celular. Boa parte da água dentro das células está fortemente ligada a proteínas, porém aproximadamente 25% são retidas por forças capilares e podem exsudar sob pressão (Olivo e Shimokomaki, 2000).

A umidade natural da carne é importante para a obtenção do rendimento e da qualidade final, contribuindo para a suculência e palatabilidade da carne.

Quando o pH *post mortem* é muito alto, a capacidade de retenção de água da carne é alta, similar àsquelas do músculo vivo. Essa grande quantidade

de água presente na carne faz com que a luz não seja refletida de forma eficiente resultando em uma carne de coloração escura, também chamada de carne tipo *DFD* (Olivo & Olivo, 2006).

2.1.2.1 Determinação do Teor de Umidade

Este método se fundamenta na perda de umidade e substâncias voláteis presentes na carne, podendo ser determinado em estufa de 105°C durante 3 horas ou em estufas de 100-102°C com circulação forçada de ar quente durante 16-18 horas, ou até as amostras atingirem peso constante. A perda de peso da amostra é considerada como umidade (Terra e Brum, 1988).

2.1.3 Gordura

Os lipídeos são importantes componentes das carnes, conferindo características desejáveis de suculência, sabor e aroma. Contudo, são facilmente oxidáveis, levando à formação de produtos tóxicos e indesejáveis. Logo após a morte do animal, inicia-se o processo de peroxidação autocatalítica, devido falta da corrente sanguínea e a consequente falha no aporte do sistema antioxidante natural (Felício, 1998).

O grau e extensão deste processo autocatalítico são influenciados pelos eventos pré-abate, tais como a alimentação e estresse, bem como por eventos pós-abate, tais como o pH, temperatura da carcaça, encolhimento pelo frio e desossa mecânica. A extensão destas reações poderá comprometer a qualidade final da carne, o que geralmente provoca uma redução no tempo de prateleira (Felício, 1998).

A determinação de lipídios em alimentos é feita, na maioria dos casos, pela extração com solventes, como o éter. Quase sempre se torna mais simples fazer uma extração contínua, seguida da remoção por evaporação ou destilação do solvente empregado. O resíduo obtido não é constituído

unicamente por lipídios, mas por compostos que, possam ser extraídos pelo solvente como vitaminas lipossolúveis e carotenóides (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

2.1.3.1 Determinação do Teor de Gordura

Utiliza-se 5 gramas de amostra em cartuchos ou papel de filtro previamente pesados. Transferir o cartucho ou o papel de filtro para o extrator, adicionando éter na quantidade de um balão e meio, mantendo sob aquecimento de 105°C e extração contínua durante 8 horas. Retire o cartucho ou o papel de filtro, e mantenha em estufa de 105°C até peso constante, para serem pesados, e conseqüentemente se determinar o teor de lipídeos (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

2.2 pH

A queda do pH após a morte, causada pelo acúmulo de ácido láctico, constitui um dos fatores mais importantes na transformação do músculo em carne, com influência direta sobre a qualidade da carne.

Com a morte do animal, ocorre a interrupção da circulação sanguínea, não ocorrendo à chegada de glicose e oxigênio nos músculos. Porém, devido o músculo ainda possuir reservas de energia na forma de glicogênio, pode-se manter por algum tempo em estado similar ao que possuía em vida (Pardi et al. 1995).

Com a deficiência de oxigênio após a morte, inicia-se o processo de degradação do glicogênio que resulta na formação de ácido láctico, que ao acumular no músculo, provoca a redução do pH de aproximadamente 7,0 no momento do abate para um pH final de 5,5 à 5,6 (Contreas, 1993).

A concentração de glicogênio muscular no abate é um dos fatores mais importantes que comprometem a qualidade da carne. Se as reservas de

glicogênio no momento do abate não forem suficientes, a queda do pH será comprometida, resultando em valores acima de 6,0 após 24 horas, resultando em uma carne escura com menor tempo de prateleira, ficando comprometida sua qualidade (Figura 2) (Immonem et al. 2000).

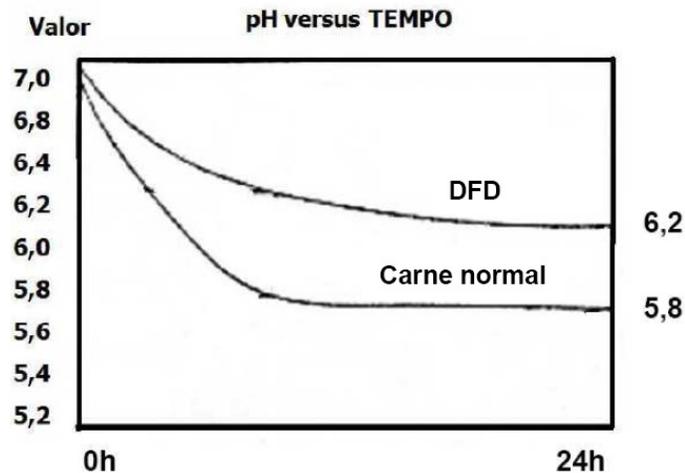


Figura 2. pH do músculo em relação ao tempo após sangria.

O pH é medido após lavagem da carcaça antes das mesmas seguirem para a câmara fria. Utiliza-se um pHmetro com sondas de perfuração de 5 cm na altura da 12ª costela no músculo *Longissimus dorsi*, e para que se possa fazer uma curva de queda de pH, deve ser realizada no mínimo 3 anotações de pH ao longo do tempo.

2.3 Cor

Entre os vários fatores de qualidade de carne exigidos pelo mercado de carne, é a manutenção da cor vermelha, que dá a impressão de satisfação ao consumidor. Para os consumidores, a cor da carne é o principal parâmetro indicador de qualidade da carne, sendo a cor vermelho-cereja da carne, a cor de maior preferência (Gasperlin et al., 2001).

A cor da carne deve-se fundamentalmente à presença e estado químico de um pigmento de cor vermelha, chamado mioglobina. A sua concentração aumenta com a idade dos animais e pode ser influenciada por diversos fatores tais como o sexo, tipo de fibra muscular, alimentação, grau de exercício físico, pH e a concentração de gordura intramuscular. É um importante critério de avaliação da qualidade da carne pelos consumidores e é determinante na orientação da decisão no ato da compra (Priolo et al. 2001).

O pigmento mioglobina, é constituído por uma proteína (globina) e uma parte não protéica (grupo heme). O grupo heme possui um átomo de ferro na posição central. O estado químico deste ferro irá determinar a cor da carne. Com sua forma reduzida (Fe^{+2}) a cor da carne apresenta-se vermelha (oximioglobina) e, com sua forma oxidada (Fe^{+3}) a cor da carne torna-se marrom (metamioglobina). A parte protéica auxilia na estabilidade desta cor. Com a eventual desnaturação da parte protéica, a carne muda de cor para o marrom (Figura 3). (Olivo & Olivo, 2006).



Figura 3: Coloração da carne em relação ao tempo de exposição ao ar.

A medida de cor pode ser obtida por meios subjetivos ou objetivos. A utilização de métodos subjetivos é usualmente tomada dentro das câmaras frias nas próprias carcaças. Porém, não é um método muito eficaz, pois pode

ocorrer variação de local para local, bem como na iluminação presente dentro de cada câmara fria.

2.3.1 Métodos Objetivos

2.3.1.1 Análise Química

Após a extração, separação da hemoglobina, filtração e reação dos pigmentos, estes são medidos espectrofotometricamente em solução, baseado em suas propriedades de absorção de luz quando em solução. A complexidade da extração e a susceptibilidade às transformações da mioglobina e hemoglobina tornam este método desvantajoso para determinação rápida e precisa da quantidade de pigmentos nas carnes (MacDougall, 1994).

2.3.1.2 Análise Física

Um dos principais sistemas de mensuração da cor é o proposto pela CIE, o qual transforma o espectro de reflectância ou transmitância do objeto, emitido nas cores primárias: vermelho, verde e azul, em variáveis X, Y e Z de um gráfico tridimensional, em que qualquer cor pode ser localizada, mediante sua mensuração em colorímetros ou espectrofotômetros (MacDougall, 1994).

Neste caso a cor é definida por três coordenadas, onde: L^* é a luminosidade, sendo medida pela luz refletida (100 = toda luz refletida; e 0 = toda a luz absorvida); a^* (vermelho); e b^* (amarelo) (Young et al. 1999).

Para a determinação da cor na carne, é necessário que haja contato da carne com o ar, para que os pigmentos reagem com o oxigênio molecular para a formação da oximioglobina. A oximioglobina se forma em 30-40 minutos de exposição ao ar e esta reação é denominada oxigenação, que ocorre rapidamente porque a mioglobina tem grande afinidade pelo oxigênio. O aparelho deve ser calibrado em uma placa de cerâmica e feita a leitura de 4-6

pontos diferentes na carne anotando se os valores de L^* , a^* e b^* (Figura 4) (MacDougall, 1994).



Figura 4: Aparelho utilizado para medição da cor em carnes.

2.4 Maciez

A maciez da carne é determinante na sua qualidade, e é provavelmente a característica sensorial mais importante quando se consome carne (Coró et al. 1999).

De acordo com Felício (1982), a maciez da carne está definida em duas formas distintas: maciez quando se utiliza medidas físicas de resistência da carne cozida submetida a compressão ou ao cisalhamento, e maciez sensorial, quando se utiliza da resistência provocada pela mastigação.

Durante muitos anos, produziu-se e consumiu-se carne sem preocupação com as funções biológicas do tecido muscular no animal vivo, e quanto elas influenciavam na qualidade da carne. A compreensão dos eventos bioquímicos, principalmente entre músculo esquelético, gordura e tecido conjuntivo, resultou em um melhor entendimento das características físico-

químicas, que ocorrem no tecido muscular, e conseqüentemente que afetam a qualidade do produto final (Judge et al. 1989).

Estudos realizados por Koohmaraie et al. (1996), hipotetizaram que a diferença na taxa e extensão da maciez *post mortem* é responsável pela variação na maciez da carne.

Dessa forma, segundo Koohmaraie et al. (1996), a maciez da carne no momento do *rigor mortis*, seja resultado da ação das calpaínas, principalmente a μ -calpaína, que se inicia no momento do abate.

No Brasil, a questão da maciez da carne bovina é um fator muito importante a ser considerado, pois, de um rebanho de 170 milhões de cabeças (Anualpec, 2008), mais de 80% é constituído de bovinos com genótipo *Bos indicus*, que pela sua rusticidade e alta resistência à temperatura tropical e aos parasitas, se adaptou bem às condições brasileiras (Bianchini, 2005).

Sabe-se que as raças bovinas podem apresentar diferenças acentuadas em termos de qualidade final da carne, principalmente em relação à maciez. Comparativamente aos animais *Bos taurus*, os bovinos *Bos indicus* apresentam carnes com menor índice de marmoreio e maciez, o que se traduz, em um menor grau de aceitação pelo consumidor, e também devido aos altos níveis da enzima calpastatína, que é o principal inibidor das calpaínas (Rubensam et al., 1998).

A calpastatína, com efeito inibidor da atividade proteolítica das calpaínas, explica entre 40 e 61% da variabilidade observada na maciez (Shackelford et al., 1994). Wheller et al. (1990) descreveram que os aspectos mais importante relacionados à maciez e à sua variação, quando se compara bovinos *Bos taurus* e *Bos indicus*, estão associados com a maturação da carne, na qual o sistema calpaína (calpaínas/calpastatína) é responsável pela fratura das estruturas protéicas e por uma maior ou menor maciez.

2.4.1 Maturação da Carne

De acordo com Felício (1997), uma das maneiras de melhorar a maciez é o processo de maturação que pode melhorar em até 25% o amaciamento da carne. A maturação, além do processo de amaciamento da carne, exerce importante influência em outras características organolépticas da carne, como o sabor, influência sua aceitabilidade e palatabilidade (Pardi et al, 1995).

Segundo Felício (1982), a maturação é uma modalidade de conservação, que consiste na estocagem de cortes cárneos por um período de 15 a 21 dias, em temperatura acima do ponto de congelamento da carne, ou seja, ao redor de 2^oC. Porém, a maturação é um fenômeno complexo que ocorre a partir da resolução da rigidez cadavérica, e que se prolonga durante a estocagem refrigerada, envolvendo o conjunto enzimático calpaína/calpastatína (Rubensan et al., 1998).

Koohmaraie (1994) descreveu as alterações ocorridas no músculo esquelético durante a estocagem após o abate, algumas nas quais são resultado de perda da integridade do tecido que causam o amaciamento. Alguns processos ocorridos são: Afrouxamento ou degradação da Linha Z; degradação da desmina, nebulina e titina; Desaparecimento da troponina T e aparecimento de polipeptídios indicando proteólise. No entanto durante os processos de maturação, as principais proteínas contráteis, actina e miosina, não são afetadas.

O desenvolvimento de embalagens a vácuo possibilitou um aproveitamento mais racional do processo de maturação da carne, onde após a desossa, os cortes são embalados e submetidos ao processo de vácuo industrial e então maturados. Por outro lado, a desvantagem deste sistema está relacionada com a cor, pois devido à ausência de oxigênio no interior da embalagem, não ocorre a formação do pigmento vermelho cereja brilhante, que é uma das características desejáveis pelo consumidor no momento da compra (Manço, 2002).

2.4.2 Determinação da Maciez

A maciez da carne pode ser medida por meio objetivo ou subjetivo. O método subjetivo se utiliza de painel sensorial em que um grupo de pessoas treinadas classifica a carne em relação à maciez após ter sido provado as amostras. O método objetivo se utiliza de equipamentos, como o texturômetro, que mede a força necessária para o cisalhamento de uma seção transversal de carne, e neste caso, quanto maior a força necessária, menor é a maciez apresentada pelo corte da carne (Tabela 1) (Alves et al. 2005).

TABELA 1. Maciez da carne bovina avaliada por força de cisalhamento (FC) e painel de degustação em função do genótipo animal.

Genótipo	Força de Cisalhamento ⁽¹⁾	Painel ⁽²⁾
Raças taurinas	4,40	5,35
25% Brahman	5,16	5,16
50% Brahman	5,80	4,93
75% Brahman	6,68	4,51
25% Sahiwal	5,64	4,93
50% Sahiwal	6,64	4,61
75% Sahiwal	8,41	4,09

⁽¹⁾ Kgf; ⁽²⁾ 1 = dura; 8 = macia

FONTE: Adaptado de Crouse et al. (1989).

Para a determinação da força de cisalhamento no texturômetro, se utiliza a metodologia proposta por Savell (1998), onde as amostras são submetidas ao forno pré-aquecido com temperatura de 170°C. As amostras são monitoradas por um termômetro até atingirem uma temperatura interna no centro de 71°C, e então resfriadas em temperatura ambiente. A seguir, as

amostras são colocadas sob refrigeração (5 a 6°C) durante 24 horas e então cortadas em cilindros de 1,27cm no sentido longitudinal da fibra com auxílio de um aparelho Warner-Bratzler para serem submetidas ao texturômetro para a leitura da força de cisalhamento, onde os resultados são expressos em Kgf (Figura 5).



Figura 5: Texturômetro utilizado para análise de maciez.

2.5 Tipos de Fibra Muscular

A associação entre características de qualidade de carne, principalmente a maciez, e características do tipo de fibra muscular tem sido muito estudada nos últimos anos, onde vários estudos evidenciam uma alta correlação entre essas duas características (Ockerman et al, 1984; Karlsson et al. 1993).

Existe uma nomenclatura determinada para os diferentes tipos de fibras: SO (fibras de coloração vermelha, metabolismo oxidativo e de contração lenta); FOG (fibras de coloração intermediária, metabolismo oxidativo-glicolítico e de contração rápida) e FG (fibras de coloração branca, metabolismo glicolítico e contração rápida).

De acordo com Therkildsen et al. (2002), a taxa de crescimento e o processo de amaciamento da carne, tem apresentados muitos resultados,

porém com dados ainda contraditórios. Para Renand et al. (2001), animais que apresentam uma maior taxa de crescimento, tendem a produzir carne mais macia sem alterar outras características como sabor e suculência.

Ockerman et al. 1984 encontraram correlação positiva entre fibras SO e maciez medida em painel de degustação para carne bovina. Já Zamora et al. 1998, encontraram uma correlação negativa para fibras do tipo SO e FOG para maciez no músculo *Longissimus dorsi* de bovinos.

O efeito do sistema de produção nas características das fibras musculares está relacionado aos diferentes níveis de atividade física e aos níveis de ingestão de alimento e a alimentação utilizada (Hadlich, 2007).

Trabalhos onde se estudou a relação entre o nível de alimentação e as características das fibras musculares mostraram que o baixo nível alimentar pode conduzir a uma maior frequência de fibras SO ou FOG e uma menor frequência de FG (Seideman e Crouse, 1986).

A composição da fibra muscular de diferentes músculos esqueléticos pode ser um dos fatores mais importantes que influenciam os eventos bioquímicos associados à conversão do tecido em carne. No geral, músculos com predomínio de fibras FG são mais suscetíveis a *glicólise* no *post mortem*, desenvolvimento do *rigor mortis* e proteólise que músculos que apresentam predomínio de fibras SO (Therkildsen et al. 2002)

Dessa forma, o estudo das possíveis correlações existentes entre a taxa de crescimento, as características das fibras musculares e o processo de amaciamento *post mortem*, é de grande interesse para a seleção e melhoramento animal visando à produção mais eficiente de carne com qualidade (Hadlich, 2007).

2.5.1 Determinação do Tipo de Fibra Muscular

As amostras de músculo após coleta são congeladas em temperatura de -80°C e transferidas para criostato com temperatura de -20°C onde uma série

de cortes histológicos com 10µm são obtidos e fixados em lâmina para a diferenciação dos tipos de fibras musculares. Para a leitura dos campos, é necessária a utilização de microscópio óptico, acoplado a um analisador de imagens ópticas e computador para a análise das imagens (Figura 5). (Dubowitz e Brooke, 1973).

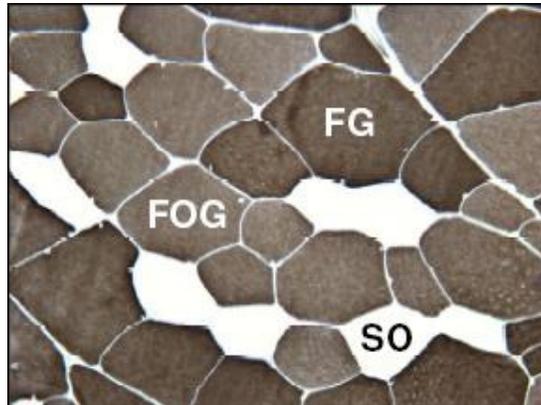


Figura 6: Amostra do músculo *Longissimus dorsi* de bovinos da raça Nelore. Fibras SO (oxidativa); FOG (oxidativa e glicolítica) e FG (glicolítica) (Fonte: Hadlich, 2007).

2.6 Perfil de Ácidos Graxos

Ter conhecimento sobre o perfil de ácidos graxos na carne bovina também é de suma importância, pois este pode ser responsável por alterações nos níveis de colesterol sanguíneo, que está diretamente relacionado com a incidência de doenças cardiovasculares na população. Isto ocorre, porque a gordura da carne de ruminantes contém ácidos graxos saturados (AGS), que, em geral, elevam os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no sangue, quando comparadas com proteínas, carboidratos ou ácidos graxos insaturados em substituições isoenergéticas.

Freitas (2006) estudou as características da carcaça, carne e do perfil de ácidos graxos de novilhos Nelore de 22 meses sob regime alimentar de

pastagem e confinamento e distribui os ácidos graxos de acordo com sua classificação (Figura 7).

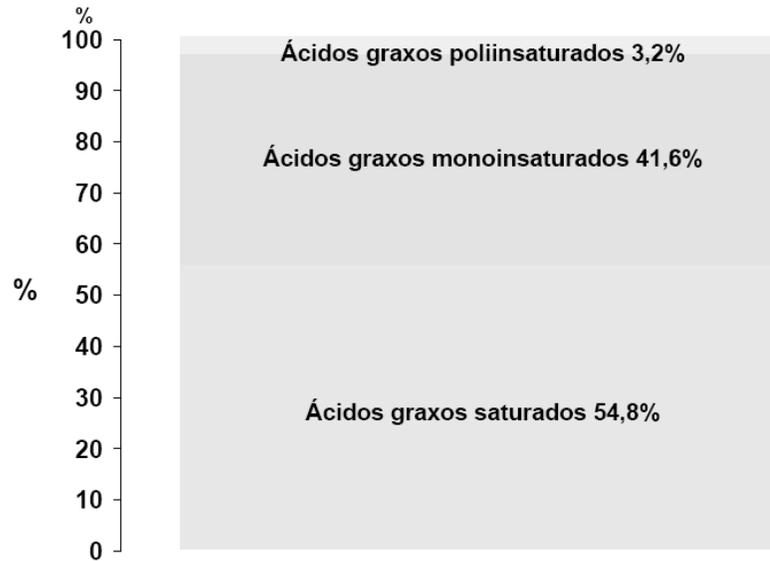


Figura 7: Composição de ácidos graxos da carne bovina (Freitas, 2006).

Na carne, são identificados inúmeros ácidos graxos que compõem a fração gordurosa do tecido adiposo, mas seis deles são os mais representativos e correspondem a cerca de 90% do total. São estes os ácidos graxos mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), palmitoleico (C16:1 ω 7), oléico (C18:1 ω 9) e linoléico (C18:2 ω 6) (Figura 8) (Freitas, 2006).

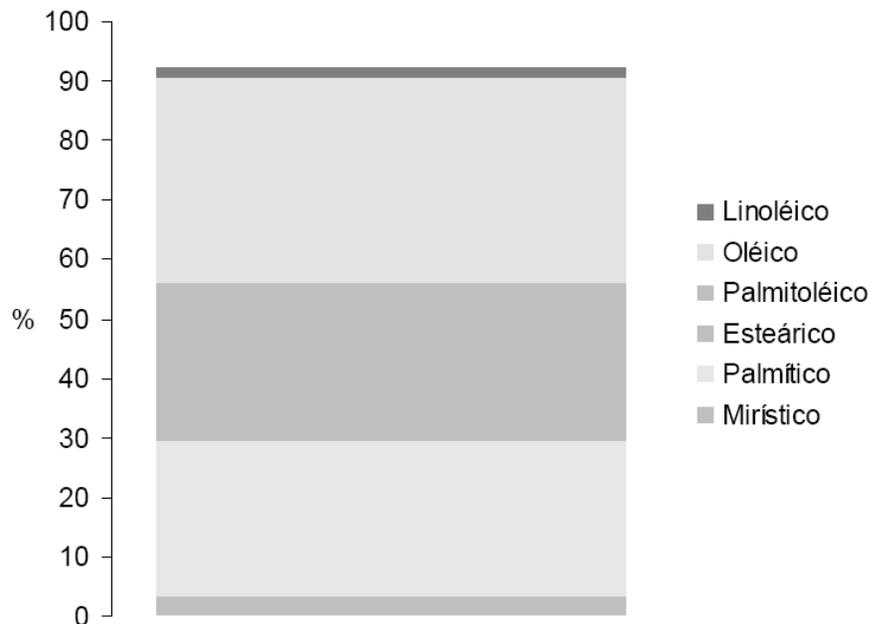


Figura 8: Principais ácidos graxos encontrados na carne bovina (Freitas, 2006).

Nem todos ácidos graxos são considerados hipercolesterolêmico. De acordo com Frech et al. (2003), o ácido graxo mais indesejável, seria o ácido mirístico. Segundo os mesmos autores, o ácido palmítico, apresenta menor efeito hipercolesterolêmico que o ácido mirístico, e o ácido esteárico que de acordo com Freitas (2006) apresenta 43% do total de ácidos graxos, não influenciam os níveis sanguíneos de colesterol.

De todos ácidos graxos, o ácido oléico é o que apresenta maior concentração na carne de novilhos (Freitas, 2006), representando cerca de 88% dos ácidos graxos monoinsaturados. O ácido oléico na sua forma *cis* tem ação hipocolesterolêmica, com a vantagem de não reduzir no HDL, atuando na prevenção de doenças cardíacas (Lobato e Freitas, 2005), além do ácido oléico atuar positivamente na qualidade sensorial da carne (Melton et al., 1982).

Além dos ácidos graxos citados anteriormente, o ácido linoléico conjugado (CLA), encontrado em produtos de ruminantes e não podendo ser sintetizado pelo organismo humano, tem sido mostrado como

anticarcinogênico, hipocolesterolêmico, antitrombótico, redução de gordura corporal e prevenção de diabetes (Lobato e Freitas, 2005).

O principal isômero do CLA (*cis* 9 *trans* 11), é um intermediário da biohidrogenação do ácido linoléico que sofre ação da enzima Delta-9-dessaturase (Kepler et al., 1966).

Não somente sobre o aspecto de saúde humana, o perfil de ácidos graxos também é importante do ponto de vista comercial, já que vários estudos têm demonstrado que a proporção de AGS, AGMI e AGPI influenciam o período de validade, assim como o sabor da carne (Duckett et al., 1993; Elmore et al., 1999). Isto ocorre porque carnes com altas concentrações de AGPI podem sofrer rancificação.

2.6.1 Determinação da Extração de Lipídeos

Para a determinação da extração de lipídeos, utiliza-se a metodologia determinada por Folch e at. (1957). Amostras de 5g são homogeneizadas em agitador com 50 ml de solução clorofórmio/etanol (2:1). Em seguida, faz-se a filtragem de com papel de filtro, adicionando 10 ml de solução de cloreto de potássio a 12% permanecendo por 2 horas em repouso, para separação das fases polar e apolar. A porção polar é descartada, submetendo a porção apolar novamente com 6 ml de cloreto de potássio seguido de repouso de 12 horas. Após a segunda separação, adiciona-se clorofórmio até completar o volume do balão em 50 ml. Do extrato preparado, retira-se 5 ml para a determinação do perfil de ácidos graxos.

2.6.2 Determinação do Perfil de Ácidos Graxos

A determinação do perfil de ácidos é feita de acordo com metodologia proposta por Hartman e Lago (1973). Uma amostra de 5 ml do extrato lipídico é concentrada com uso de nitrogênio gasoso em banho-maria, à temperatura

de 45°C, realizando a saponificação com solução de hidróxido sódio em metanol 0,5M, seguida de metilação com cloreto de amônia, metanol e ácido sulfúrico. Após metilação, 5 ml de hexano são adicionados e agitados por 10 segundos para separação dos ácidos esterificados. Em seguida, 3 ml da porção sobrenadante (hexano e ácidos graxos metilados) são retirados e concentrados em banho-maria a 45°C, com nitrogênio gasoso. No ato da injeção no cromatógrafo a gás, este extrato é diluído com 1 ml de hexano.

As amostras são submetidas à cromatografia gasosa e injetadas automaticamente, equipado com detector de chamas, injetor split na razão 1:50, coluna capilar (100m; 0,25mm; 0,20µl) e acoplado a software para a leitura dos ácidos graxos. Os diferentes ácidos graxos são identificados por comparação com os tempos de retenção apresentados pelo padrão cromatográfico.

2.7 Calpaína/calpastatína

Pesquisas recentes têm evidenciado que as proteases ativadas pelo íon cálcio, denominadas calpaínas, são enzimas relacionadas à proteólise *post mortem*, que levam a um aumento progressivo na maciez da carne. Desse modo, surgiu-se um grande interesse no seu estudo por sua influência nas qualidades sensoriais na carne bovina (Rubensam *et al.* 1998). O mesmo autor descreve ainda uma pior textura da carne de animais *Bos indicus* em relação a animais *Bos taurus* principalmente devido a maiores níveis da enzima calpastatína.

O complexo enzimático das calpaínas é formado por duas enzimas: 1) Proteinase ativada por concentração micromolar de cálcio, ou μ -calpaína, ou calpaína tipo I sendo bastante efetiva em amaciar a carne logo após o abate (6 a 10 horas), quando as concentrações de cálcio no sarcoplasma se elevam de 10^{-7} moles/litro para 10^{-6} a 10^{-5} moles/litro e o pH decai de 6,8 para aproximadamente 5,7; e 2) Proteinase ativada por concentração milimolar de

cálcio, ou m-calpaína, ou calpaína tipo II. Essas enzimas são ativadas por cálcio livre (não retido no retículo sarcoplasmático ou nas mitocôndrias). São ativadas quando o pH está em torno de 5,7 e é responsável pela continuidade do processo de amaciamento, estando ativa em torno das 16 horas *post mortem* e assim permanecendo por longos períodos. (Koohmaraie, 1992).

O mecanismo de ação mais aceito para a tenderização da carne é a degradação e/ou enfraquecimento do disco Z. As calpaínas atuam promovendo a liberação da α actina e a degradação das troponinas T e I e proteína C, porém as calpaínas não degradam as miosinas e actinas. A queda na atividade da calpaína pode ser também atribuída ao declínio de pH e temperatura mas o principal fator relacionado a queda na atividade é a inativação via calpastatína (Hopkins and Taylor, 2004).

O mecanismo mais aceito atualmente sugere a capacidade de ligação da calpastatína com a calpaína, inibindo assim suas interações, ou a degradação da calpastatína pelas calpaínas permitindo que grupo enzimático mantenha suas atividades. Outra explicação é que a distribuição de calpastatína na célula é alterada pelo aumento e queda dos níveis intracelulares de cálcio livre e estes regulam a atividade das calpaínas (Hopkins and Taylor, 2004).

2.7.1 Determinação da calpastatína

A calpastatína é determinada segundo a técnica de Shackelfor et al. (1994), onde 10 g de carne, livre de tecido conjuntivo, são homogeneizados com 30 ml de solução Tris-HCl (Tri[hidroximetil]aminometano) 100 mM, contendo EDTA (ácido etilenodinitrotetracético) 10 mM, 2-mercaptoetanol 10 mM, E-64 (trans-epoxisuccinil-L-leucilamido) 0,02 mM, ovomucóide 10 mg/100 ml e PMSF (fenilmetilsulfonilfluoreto), concentração final de 2 mM, pH 8,3, em homogeneizador. Após a homogeneização em três ciclos de 30 segundos com intervalos de 30 segundos, em banho de gelo, as amostras são centrifugadas a 30.000 g por duas horas. A seguir, o sobrenadante é dialisado por 18 horas

contra solução Tris-HCl 40 mM, EDTA 0,5 mM e pH 7,35. Após a diálise o material é transferido para uma série tubos de ensaio, os quais são aquecidos em banho-maria a 95°C durante 15 minutos e resfriados em banho de gelo por mais 15 minutos. Em seguida, o material é transferido para outros tubos e centrifugado a 30.000 g por 30 minutos. O volume do sobrenadante final é filtrado em gaze e lã de vidro, sendo anotado o volume do filtrado, sendo denominado extrato de carne. A determinação da atividade de calpastatína das amostras é realizada em triplicatas, verificando a inibição da hidrólise de caseína por uma preparação padrão de m-calpaína. Alíquotas (de 0,1 a 0,5 mL) dos extratos de carne são diluídas com solução Tris-HCl 40 mM, EDTA 0,5 mM, 2-mercaptoetanol 10 mM e pH 7,35, até completar 1 ml. A estas alíquotas serão adicionados 10 ml da preparação de m-calpaína e cloreto de cálcio 5 mM, adicionado por último porque a m-calpaína torna-se ativa em presença de íons cálcio. Assim, é realizado um controle branco (b) no qual a m-calpaína é substituída por tampão; um controle (c) para determinar a atividade da preparação de m-calpaína e um controle (e) para descontar a atividade de outras peptidases presentes no extrato de carne. No controle (e), a adição de EDTA 10 mM assegura se a inibição da m-calpaína. Adiciona-se a todos os tubos 1 ml da solução substrato (caseína 7mg/ml, 100 mM, contendo azida sódica 1 mM, pH 7,5). Imediatamente após a adição de CaCl₂, agita-se os tubos para homogeneizar a mistura que é incubada em banho maria a 25°C por 60 minutos. O ensaio é interrompido pela adição de 2 ml de ácido tricloroacético 5%. Posteriormente, os tubos de ensaio são centrifugados (500 x g, 30 min, temperatura ambiente) e a absorbância (278 nm) do sobrenadante determinada. A atividade de calpastatína (Acal) das amostras é então calculada da seguinte forma: $Acal/ml = (c - b) - [(d - b) - e]$, volume das amostras. Finalmente, calcula-se a atividade de calpastatína por grama de carne.

LOPES, L.S. Metodologias utilizadas para avaliar as características físicas, químicas e organolépticas da carne. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 20, Ed. 125, Art. 847, 2010.

CONCLUSÃO

As técnicas utilizadas para a determinação das características qualitativas da carne são importantes na busca pela padronização do produto final, pois ainda há produção de carne em diferentes sistemas de produção, o que leva a produção de carne com características heterogêneas de qualidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, D.D.; GOES, R.H.T.B.; MANCIO, A.B. Maciez da Carne Bovina. **Ciência Animal Brasileira**, n.3, v.6, p. 135-149, 2005.

ANUALPEC 2008. *Anuário da pecuária brasileira*. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2008. 380p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. **Official Methods of the Association of Official Analytical Chemist**. 15.ed. Washington, 1990. v.1, 684p.

BAILEY, A.J. The role of collagen in the development of muscle and relationship to eating quality. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 60, n. 6, p. 1580-1587, 1985.

BIANCHINI, W. **Crescimento muscular e qualidade da carne de bovinos Nelore, Simental e seus mestiços no sistema de de produção superprecoce**. (Tese Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ/Unesp, Jaboticabal, 2005, 82p.

CORÓ, A.G.; YOUSSEF, E.Y.; SHIMOKOMAKI, M. Carne do zebu: O que está atrás da sua textura. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v.23, n.271, p.28-34, 1999.

CONTREAS, C.J.C. Uso da refrigeração para evitar encurtamento muscular. **Revista Nacional da Carne**, v.17, n.198, p.67-76, 1993.

CROUSE, J.D.; CUNDIFF, L.V.; KOCH, R.M. Comparisons of *Bos indicus* and *Bos taurus* inheritance for carcass beef characteristics and meat palatability. **Journal of Animal Science**, v.67, n.10, p.2661-2668, 1989.

DUBOWITZ V.; BROOKE, M.H. Histological and histochemical stains and reactions. In: DUBOWITZ, V. **Muscle biopsy: a modern approach**. London: W. B. Saunders, 1973. Cap. 2, p.20-73.

ELMORE, S.J.; MOTTRAM, D.J.; ENSER, M.; WOOD, J.D. Effect of the polyunsaturated fatty acid composition of beef muscle on the profile of aroma volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, 1619-1625, 1999.

FELÍCIO, P.E. **Carcass composition and quality traits of zebu steers slaughtered in the state of São Paulo Brazil**. Kansas-USA, 1982, 217 p. Tese (Doutorado) – Kansas State University, USA.

LOPES, L.S. Metodologias utilizadas para avaliar as características físicas, químicas e organolépticas da carne. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 20, Ed. 125, Art. 847, 2010.

FELÍCIO, P.E. de. Simpósio sobre Produção Intensiva de Gado de Corte, 1998, Campinas. **Anais...** São Paulo: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1998, p.92-99.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.226, n.1, p.497-509, Jan. 1957.

FREITAS, A.K. **Características da carcaça, da carne e perfil dos ácidos graxos de novilhos Nelore inteiros ou castrados em duas idades.** (Dissertação Mestrado). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006. 68 f.

FRENCH, P.; O'RIORDAN, E.G.; MONAHAN, F.J. et al. Fatty acid composition of intra-muscular triacylglycerols of steers fed autumn grass and concentrates. **Livestock Production Science**, v. 81, p. 307-317, 2003.

GASPERLIN, L.; ZLENDER, B.; ABRAM, V. Colour of beef heated to different temperatures as related to meat ageing. **Meat Science**, v.57, p.23-30, 2001.

HADLICH, J.C.; MORALES, D.C.; SILVEIRA, A.C.; OLIVEIRA, H.N.; CHARDULO, L.A.L. Efeito do colágeno na maciez da carne de bovinos de distintos grupos genéticos. **Acta Scientiarum**, v.28, n.1, p.57-62, 2006.

HADLICH, J.C. **Caractísticas do crescimento animal, do tecido muscular esquelético e da maciez da carne de bovinos nelore e mestiços no modelo biológico superprecoce.** (Tese Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias de Botucatu –SP (UNESP) , 2002, 87p.

HARTMAN, N.L.; LAGO, R.C. A rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, n.9, p.475-476, 1973.

HOPKINS, D.L.; TAYLOR, R.G. *Post mortem* Muscle Proteolysis And Meat Tenderness. In: TE PAS, M.F.W.; EVERTS, M.E.; HAAGSMAN, H.P. **Muscle Development Of Livestock Production: Physiology, Genetics and Meat Quality.** Cabi Publishing, p.363-388, 2004.

IMMONEM, K.; RUUSUNEN, M.; HISSA, K.; PUOLANNE, E. Bovine muscle glycogen concentration in relation to finish diet slaughter and ultimate pH. **Meat Science**, v.55, n.1, p.25-31, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4. ed. São Paulo, IMESP, 2008, 1020p.

JORGE, A. M.; ANDRIGUETTO, C.; MILLEN, D. D.; CALIXTO, M. G.; RODRIGUES, E.; STORTI, S. M. M.; VILELA, L. C. Características bioquímicas da carne de bubalinos Mediterrâneo terminados em confinamento e abatidos em diferentes pesos. **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.1534-1539, 2006.

JUDGE, M.; ABERLE, E.D.; FORREST, J.C.; HEDRICK, H.B.; MERKEL, R.A. **Principles of Meat Science.** Dubuque: Kendall/Hunt, p.351, 1989.

KARLSSON, A.; ENFALT, A.C.; ESSEN-GUSTAVSON, B.; LUDSTROM, K. RYDHMER, L.; STERN, S. Muscle histochemical and biochemical properties in relation to meat quality during selection for increased lean tissue growth rate in pigs. **Journal of Animal Science**, v.71, p.930-938, 1993.

LOPES, L.S. Metodologias utilizadas para avaliar as características físicas, químicas e organolépticas da carne. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 20, Ed. 125, Art. 847, 2010.

KEPLER, C.R.; HIRONS, K.P.; McNEILL, J.J. et al. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. **Journal of Biological Chemistry**, n. 241, p. 1350-1354, 1966.

KOOHMARAIE, M. Role of the neutral proteinases in postmortem muscle protein degradation and meat tenderness. In: RECIPROCAL MEAT CONFERENCE, 45., 1992, Knoxville. **Proceedings...**Knoxville: American Meat Science Association, 1992. P. 63-71.

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

LOBATO, J.F.P.; FREITAS, A.K. **Carne bovina: Mitos e verdades**. Pré-congresso do 60º Congresso da sociedade brasileira de cardiologia, FIERGS, Porto Alegre, 2005.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da Carne Bovina**. Nova Odessa: Laboratório de Análises de carne, 2000. 140p.

MACDOUGALL, D.B. Colour meat – its basis and importance. In: Pearson, A.M. & DUTSON. T.R. **Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish product – Advances in meat research series**. 9. ed. Black Academic & Professional, cap.2, p. 34 –78, 1994.

MANÇO, M. C. W. **Efeito da idade de abate em parâmetros *post-mortem* e na maturação da carne de bovinos da raça nelore** (Dissertação Mestrado) Faculdade de Ciências Agrárias de Botucatu - SP (UNESP), 2002, 84 p.

MELTON, S.L.; AMIRI, M.; DAVIS, G.W. et al. Flavor and chemical characteristics of ground beef from grass-, forage-grain- and grain-finished steers. **Journal of Animal Science**, v. 55, n. 1, p. 77-87, 1982.

MOLETTA, J.L.; RESTLE, J. Influência do grupo genético sobre características qualitativas da carne de novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.5, p.866-875, 1996.

OCKERMAN, H.W; JAWOREC, D.; VANSTAVERN, B.; PARRET, N.; PIERSON, C.J. Castration and sire effects on carcass traits, meat palatability and muscle fiber characteristics in angus cattle. **Journal of Animal Science**, v.59, p.981-990, 1984.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: No Caminho da Pesquisa**. Cocal do Sul: Imprint, 2001. 155p.

OLIVO, R.; OLIVO, N. **O mundo das Carnes – Ciência, Tecnologia & Mercado**. 4. ed. Criciúma, 2006. 214p.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F. dos; SOUZA, E.R. de; PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: UFG, 1995. 1v.

PRIOLO, A.; MICOL, D.; AGABRIEL, J.; Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. A review. **Animal Research**. v.50, 185-200, 2001.

RENAND, G.; PICARD, B.; TOURAILLE, C.; BERGE, P.; LEPETIT, J. Relationship between muscle characteristics and meat quality traits of young Charolais bulls. **Meat Science**, v.59, p.49-60, 2001.

LOPES, L.S. Metodologias utilizadas para avaliar as características físicas, químicas e organolépticas da carne. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 20, Ed. 125, Art. 847, 2010.

RUBENSAM, J.M; FELÍCIO, P.E.; TERMIGNONI, C. Influência do genótipo *Bos indicus* na atividade de calpastatina e na textura da carne de novilhos abatidos no sul do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 4, p. 1235-1241, 1998.

SAVELL, J. Standardized Warner-Bratzler shear force procedures for genetic evaluation. 1998. Disponível em <<http://savellj.tamu.edu/shearstand.html>> Acessado em: 19/novembro/2008.

SEIDEMAN, S.C.; CROUSE, J.D. The effects of sex condition, genotype and diet on bovine muscle fiber characteristics. **Meat Science**, v.17, p.55-72, 1986.

SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M.; CUNDIFF, L.V. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine post rigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner- Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 4, p. 857-863, 1994.

TERRA, N.N.; BRUM, M.A.R. **Carne e Seus Derivados – Técnicas de Controle de Qualidade**. 1. ed. São Paulo: Nobel, 1988, 121p.

THERKILDSEN, M.; MELCHIOR LARSEN, L.; BANG, H.G.; VESTERGAARD, M. Effect of growth rate on tenderness development and final tenderness of meat from Friesian calves. **Animal Science**, v.74, p.253-264, 2002.

WARRIS, P.D. **Meat Science**. An Introductory Text. CABI Publishing: London, 2000. 308p.

WHEELER, T.L.; SAVELL, J.W.; CROOS, H.R. Mechanisms associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, n.12, p.4206-4220, 1990.

WOESSNER JUNIOR, J.F. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Miami, v. 93, p. 440-447, 1961.

Young, O.A.; Priolo, A.; Simmons, N.J.; West, J. Effects of rigor attainment temperature on meat blooming and colour on display. **Meat Science**, v.52, p.47-56, 1999.

ZAMORA, F.; CHAIB, F.; DRANSFIEL, E. Calpains and calpastatin from cold-shortened bovine muscle *Longissimus lumborum*. **Meat Science**, v 49, p. 127-133, 1998.