

**AVALIAÇÃO DO AMACIAMENTO DE CARNE BOVINA
DE DIANTEIRO (*Triceps brachii*) PELOS
MÉTODOS DE: MATURAÇÃO; ESTIMULAÇÃO
ELÉTRICA; INJEÇÃO DE ÁCIDOS E
TENDERIZAÇÃO MECÂNICA.**

DÉBORA MARIA UBISSÉS PUGA
Nutricionista

Orientadora: Dra. **CARMEN JOSEFINA CONTRERAS CASTILLO**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
JUNHO/1998

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Puga, Débora Maria Ubisses

Avaliação do amaciamento de carne bovina de dianteiro (*Triceps brachii*) pelos métodos de: maturação; estimulação elétrica; injeção de ácidos e tenderização mecânica / Débora Maria Ubisses Puga. - - Piracicaba, 1998.

91 p.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998.
Bibliografia.

1. Amaciamento 2. Carne bovina 3. Maturação 4. Musculo 5. Tecnologia de alimento I. Título

CDD 664.92

**AVALIAÇÃO DO AMACIAMENTO DE CARNE BOVINA
DE DIANTEIRO (*Triceps brachii*) PELOS
MÉTODOS DE: MATURAÇÃO; ESTIMULAÇÃO
ELÉTRICA; INJEÇÃO DE ÁCIDOS E
TENDERIZAÇÃO MECÂNICA.**

DÉBORA MARIA UBISSES PUGA

Aprovada em:

Dra. CARMEN JOSEFINA CONTRERAS CASTILLO

Orientadora

Dedico aos meus pais Ramom e Maria, pelos ensinamentos que me prepararam para a vida

Ofereço ao meu marido Nilton e a meu filho Gabriel, por terem sido a minha inspiração, meu refúgio e meus amores, suportando com paciência a minha ausência.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço ao Senhor meu Deus, em quem todas as coisas são possíveis.
- À minha orientadora Dra. Carmen Contreras que em nenhum momento duvidou de minha determinação.
- Agradeço ao Dr. Murilo Graner, meu primeiro orientador, cujos conselhos foram imprescindíveis e determinantes em minha capacitação profissional.
- À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial por viabilizar a realização desse trabalho.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.
- Desejo expressar minha gratidão ao Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas (ITAL), em especial ao Dr. Nelson José Beraquet, diretor do ITAL, através de quem pudemos obter o material necessário à realização desse trabalho.
- Ao Centro de Tecnologia de Carnes (CTC – ITAL), na pessoa do Diretor Técnico Científico do CTC Dr. Manuel Pinto Neto pelas instalações, equipamentos e funcionários cedidos a realização deste trabalho.
- Ao Instituto de Zootecnia da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, em especial ao Dr. Paulo Roberto Leme e ao Dr. Romeu Fernando Nardon do Centro de Nutrição Animal, pela matéria prima cedida e indispensável a realização deste trabalho e ainda pela atenção e gentileza dispensadas a nós.
- Às pesquisadoras do CTC, Dra. Kátia M. V. A. B. Cipolli e Dra. Hana K. Arima pelas sugestões e apoio em momentos decisivos.
- À Nilda Montes Villanueva pela orientação e aporte técnico nas análises estatísticas, cujos efeitos sentir-se-ão para sempre em minha vida profissional.
- Ao amigo e companheiro Marcello Rodrigues Turnbull, estagiário do CTC, pela incansável determinação em transpor os obstáculos que ora ou outra nos afligiram.
- À todos os funcionários do CTC – ITAL , pelo companheirismo e espírito prático.
- Às funcionárias do Setor de Microbiologia do CTC-ITAL, Josiane, Luciana que sempre atenderam e solucionaram nossas dúvidas.

- À Dra. Marisa Aparecida Bismara Regitano d'Arce pela amizade, incentivo e palavras de ânimo nos momentos decisivos, agradeço ainda sua participação nas correções do trabalho.
- À Dra. Marília Oetterer pelas críticas construtivas sempre direcionadas ao nosso crescimento profissional.
- Ao Dr. Jorge Horii pela simpatia em receber-nos com nossas dúvidas, como quem orienta a uma filha.
- Ao Dr. Antonio Joaquim de Oliveira pelas preciosas críticas.
- Ao amigo Hilcias Arruda Nicolau pela orientação na digitação e editoração do nosso trabalho. Ainda agradeço sua presteza e gentileza em atender-nos todas as vezes em que foi solicitado.
- À secretária do curso de pós – graduação do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da ESALQ –USP, Regina Lúcia de Mello Lourenço, pela simpatia, colaboração e pelo carinho com que sempre nos atendeu.
- Às bibliotecárias Beatriz Helena Giongo e Midiam Gustinelli da Biblioteca Setorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da ESALQ – USP, pela correção das referências bibliográficas e pela orientação no levantamento bibliográfico.
- À CRYOVAC Brasil S.A., na pessoa do Sr. Alexandre Rodrigues, pelas embalagens e pela orientação cedidas ao nosso trabalho.
- Ao Frigorífico Angelelli, pelas instalações e pessoal dispensados no abate dos animais utilizados nesse trabalho.
- E finalmente, expresso um agradecimento especial aos meus pais, por depositarem em mim a confiança necessária para a formação de meu caráter e de minha auto estima. Ao meu marido Nilton pelo companheirismo e carinho. Ao meu filho Gabriel por ter sido minha fonte de energia, alimentando sempre a minha vontade de vencer. Às minhas irmãs, Flávia e Cláudia, pelo orgulho que sempre sentiram em mim.
- Em geral, agradeço a todos quantos de uma maneira ou outra colaboraram na realização desse trabalho.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURA.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO.....	xiii
SUMMARY.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVO.....	04
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	05
3.1. Estrutura muscular.....	05
3.2. Aspectos bioquímicos da conversão do músculo em carne.....	07
3.2.1. Repouso e contração.....	07
3.2.2. Rigor mortis.....	07
3.3. Fatores que afetam a maciez.....	08
3.3.1. Fatores “ante-mortem”.....	08
3.3.2. Tecido conectivo.....	09
3.3.3. Temperatura.....	10
3.3.4. Enzimas.....	12
3.3.5. Outros fatores.....	14
3.4. Métodos para amaciamento da carne.....	15
3.4.1. Maturação.....	15
3.4.2. Estimulação Elétrica.....	18
3.4.3. Tratamento com ácidos.....	21

3.4.4. Tenderização mecânica	23
4. EXPERIMENTO 1	26
4.1. Material e métodos.....	26
4.1.1. Amostras.....	26
4.1.2. Tratamentos	28
4.1.2.1. Controle	28
4.1.2.2. Tratamento com ácidos	28
4.1.2.3. Estimulação elétrica	28
4.1.2.4. Tenderização mecânica	29
4.1.2.5. Maturação	29
4.1.3. Cozimento	29
4.1.4. Análises físicas	29
4.1.4.1. Cor.....	29
4.1.4.2. Força de cisalhamento.....	30
4.1.4.3. Perdas de peso por cozimento e por tratamento	30
4.1.5. Análises bioquímicas	30
4.1.5.1. pH.....	30
4.1.5.2. Valor R	31
4.1.6. Análise sensorial	31
4.1.7. Análises microbiológicas	34
4.1.8. Análise estatística.....	34
4.2. Resultados e discussão	34
4.2.1. Avaliações físicas e sensoriais.....	34
4.2.1.1. Força de cisalhamento e maciez subjetiva.....	34
4.2.1.2. Perdas de peso por cozimento e devido ao tratamento	41
4.2.1.3. Cor instrumental	45
4.2.2. Análises bioquímicas	46
4.2.2.1. Curva de valor R e curva de pH.....	46
4.2.3. Análises microbiológicas	49

4.3. Conclusão	51
5. EXPERIMENTO 2	53
5.1. Material e métodos.....	53
5.1.1. Amostras.....	53
5.1.2. Tratamentos	53
5.1.2.1. Controle	53
5.1.2.2. Tratamento com ácidos	54
5.1.2.3. Maturação	55
5.1.3. Cozimento	55
5.1.4. Análises físicas	55
5.1.4.1. Cor.....	55
5.1.4.2. Força de cisalhamento.....	55
5.1.4.3. Perdas de peso por cozimento e por tratamento	55
5.1.5. Análises bioquímicas	56
5.1.5.1. pH.....	56
5.1.6. Análise sensorial	56
5.1.7. Análises microbiológicas	58
5.1.8. Análise estatística.....	58
5.2. Resultados e discussão	58
5.2.1. Análises físicas e sensoriais.....	58
5.2.1.1. Força de cisalhamento.....	58
5.2.1.2 Análise sensorial	63
5.2.1.3. Perda de peso por cozimento e por tratamento.....	64
5.2.1.4. Cor instrumental.....	69
5.2.2. Análises bioquímicas	70
5.2.2.1. pH	70
5.2.3. Análises microbiológicas	72
5.3. Conclusão	75

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....76

APÊNDICES86

LÍSTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Fluxograma de abate de bovinos e aplicação dos tratamentos do experimento 1	27
Figura 2. Ficha de avaliação sensorial do experimento 1	33
Figura 3. Diagrama de caixas dos valores de força de cisalhamento (INSTRON) as amostras submetidas aos tratamentos para amaciamento	35
Figura 4. Gráfico de correlação entre as médias de força de cisalhamento (INSTRON) e maciez subjetiva (painel sensorial)	37
Figura 5. Gráfico de correlação entre valores de força de cisalhamento (INSTRON) e perda de peso por cozimento (PPC)	41
Figura 6. Diagrama de caixas dos valores das perdas por cozimento (PPC) do músculo <i>Triceps brachii</i>	42
Figura 7. Diagrama de caixas dos valores da perda de peso por tratamento (PPT) do músculo <i>Triceps brachii</i>	43
Figura 8. Gráfico da correlação entre os valores de perda de peso por cozimento (PPC) e perda de peso por tratamento (PPT)	45
Figura 9. Curva de valor R nas primeiras 9 horas após o abate	47

Figura 10. Curva de pH nas primeiras 24 horas após o abate	48
Figura 11. Histograma de frequências do pH 24 horas “post mortem” dos abates 1 e 2	49
Figura 12. Fluxograma de abate de bovinos e aplicação dos tratamentos do experimento 2	54
Figura 13. Ficha de avaliação sensorial do experimento 2	57
Figura 14. Diagrama de caixas dos valores de força de cisalhamento (INSTRON) as amostras submetidas aos tratamentos para amaciamento	60
Figura 15. Gráfico de correlação entre os valores de PPC e pH depois do tratamento com ácidos	66
Figura 16. Gráfico de correlação entre os valores de PPC e pH depois da maturação ..	67

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Resultados da avaliação sensorial e instrumental de propriedades do músculo <i>Triceps brachii</i> , segundo a influência dos vários tratamentos	36
Tabela 2. Matriz de correlação entre os valores de perda de peso por cozimento e por refrigeração, força de cisalhamento e pH de 24 horas	38
Tabela 3. Médias da cor instrumental da carne maturada	46
Tabela 4. Caracterização microbiológica da carne antes da embalagem (1 dia) a vácuo e depois da maturação de 9 dias e 14 dias	50
Tabela 5. Médias e erros-padrões dos resultados da análise sensorial para maciez, suculência e qualidade global e da análise de força de cisalhamento (INSTRON)	59
Tabela 6. Valores máximos e mínimos de pH das amostras antes e depois de cada tratamento	63
Tabela 7. Médias e erros-padrões de perdas por tratamento e por cozimento	68
Tabela 8. Médias e erros-padrões de cor instrumental antes e depois dos tratamentos	70
Tabela 9. Caracterização microbiológica da carne antes e depois de submetidas à maturação por 14 e 21 dias	73

RESUMO

No presente estudo comparou-se o efeito de várias técnicas de amaciamento sobre a maciez subjetiva e a força de cisalhamento do músculo *Triceps brachii*.

Na primeira etapa, chamada de experimento 1, 22 músculos *Triceps brachii* obtidos de 11 bovinos fêmeas com idade de 24 meses, abatidos em abatedouro experimental, foram submetidos à tenderização mecânica, à injeção de ácido acético 0,1M e ácido láctico 0,2M, à maturação por 9 e 14 dias, à estimulação elétrica (250V - 60 Hz - 90s), sendo alguns reservados como grupo controle, sem tratamento. Nesta etapa, a carne maturada por 14 dias apresentou 21% de aumento na maciez subjetiva e 12% de diminuição da força de cisalhamento, estes valores são semelhantes aos da estimulação elétrica. Contudo a injeção com ácidos e a maturação por 9 dias não apresentou efeito significativo sobre a textura da carne tratada. Embora o valor da força de cisalhamento da carne tenderizada mecanicamente tenha sido o menor entre todos os tratamentos, suspeita-se de superstimulação devido ao plano de fraturas criadas por tal processo.

Na segunda etapa, chamada de experimento 2, foram abatidos 25 bovinos machos da raça Nelore com idade de 24 meses, em abatedouro comercial, para obtenção de 30 músculos *Triceps brachii*. Das 30 unidades experimentais a) 5 foram descartadas por apresentar pH de 24 horas maior que 6,0 e portanto, serem consideradas carne DFD as quais apresentam características indesejáveis para cor, suculência e textura; b) 6 foram congeladas como grupo controle e c) 19 restantes foram submetidas aos seguintes tratamentos: maturação por 14 dias e por 21 dias; injeção de ácido acético 0,1M e 0,2M; e injeção de ácido láctico 0,2M e 0,3M. Para os valores de força de cisalhamento os tratamentos que apresentaram melhora significativa, foram: a carne maturada por 14 e 21 dias e injeção com ácido láctico 0,2M com 46,6%, 39,0% e 24,2% de diminuição na força de cisalhamento. A análise sensorial também apontou a carne maturada por 14 dias, a carne tratada com ácido acético 0,1M e a carne maturada por 21 dias, como os melhores resultados para maciez, com 31,0%, 22,3% e 20,1% de aumento na maciez.

Para os outros tratamentos não houve diferença estatística significativa para força de cisalhamento e a análise sensorial quando comparados ao grupo controle.

Durante as duas etapas do trabalho foram realizadas outras análises como: monitoramento da curva de pH e de valor R; análises de cor; perda de peso por cozimento e devido aos tratamentos; além de análises microbiológicas.

SUMMARY

The effects of various methods of tenderizing on tenderness and shear force of the *Triceps brachii* muscle were compared. The work was divided into two sections.

In the first section (experiment 1), 22 *Triceps brachii* muscles obtained from 11 cows of 3 to 4 years of age, slaughtered at an experimental slaughtering plant, were submitted to mechanical tenderization, injection of 0.1M acetic acid and 0.2M lactic acid, ageing for 9 and 14 days, and electrical stimulation (250v – 60Hz – 90s); some muscles were set apart as a control group, without treatment. In this section, the 14 - day aged meat showed an increase of 21% in subjective tenderness and a 12% decrease in shear force; these values were similar to those of the electrical stimulated meat. However, the injection of acids and ageing for 9 days did not show significant effect on the texture. Although the value of mechanical tenderized meat shear force was the lowest among all treatments, one may suspect of superestimation because of the fractures plan created by this process.

In the second section (experiment 2), 25 male Nelore (*Bos indicus*) of 24 mouths of age, were slaughtered at a commercial slaughtering plant to obtain 30 *Triceps brachii* muscles. From 30 experimental units, a) 5 were neglected because the *post mortem* pH was over than 6.0 and they were, therefore, considered as DFD meat with undesirable characteristics for colour, swell and texture; b) 6 were frozen as a control group, and c) the remaining 19 were submitted to ageing for 14 and 21 days, injection of 0.1M and 0.2M acetic acid, and injection of 0.2M and 0.3M lactic acid. The meat aged for 14 and 21 days and the 0.2M lactic acid - inject meat had a significant decrease in shear force, with 46.6%, 39.0% and 24.2% of reduction. The sensorial analyses also pointed best results in tenderness for the 14 – day aged meat, the 0.1M acetic acid – injected meat, and the 21-day aged meat, with 31.0%, 22.3% and 20.1% of tenderness increase. The other treatments did not show significant differences in shear force values and sensorial analyses im comparison with the control group.

Along both experiments, the monitoration of the pH curve and R value, colour analyses, analyses weight loss by cooking and treatments, and microbiological analyses were also performed.

1. INTRODUÇÃO

O anuário de produção da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) de 1996 classifica o Brasil como possuidor do segundo maior rebanho do mundo, com cerca de 165 milhões de cabeças. Segundo o Anualpec (Anuário Estatístico de Produção Animal) de 1997, o Brasil é o quinto maior consumidor per-capita mundial, com 39,5 kg de carne/pessoa/ano. Esses dados refletem a importância da indústria da carne num país com cerca de 156 milhões de habitantes (IBGE, 1994), com 29,5 milhões de bovinos abatidos e 6,05 milhões de toneladas de carnes produzidas. Esses números multiplicam-se quando pensamos em divisas, tributos e empregos gerados pela industrialização e comercialização da carne.

A indústria brasileira da carne conta com tecnologia de ponta digna de competir no comércio exterior com países de primeiro mundo, mas convive sob o estigma dos abates clandestinos, surtos regionais de febre aftosa e falta de dados estatísticos estratificados por sexo, idade, peso e outras características importantes na avaliação da produção de carne bovina (Felício, 1995). A heterogeneidade do rebanho brasileiro, devido ao cruzamento de raças, somada à ausência de um sistema adequado de tipificação e às práticas inadequadas de manejo, abate, resfriamento, processamento e transporte, favorecem o endurecimento dos cortes comerciais obtidos a partir desses animais.

Nesse contexto, a tecnologia da carne surge no país como fruto do acúmulo de conhecimentos, resultado da necessidade de satisfazer esse mercado exigente em qualidade tanto na obtenção de um produto saudável, quanto da satisfação das características organolépticas.

Devido ao crescente interesse da indústria em processos rápidos que produzam efeitos uniformes na maciez da carne, a tenderização mecânica através de lâminas ou agulhas tem sido amplamente empregada na indústria da carne (Hayward *et al.*, 1980). Neste processo há a ruptura da estrutura muscular pela penetração de lâminas finas ou agulhas que perfuram a carne, conseqüentemente, há um aumento da maciez.

Com a descoberta do encurtamento pelo frio por Locker & Hagyard (1963), o método da estimulação elétrica ressurgiu como forma de se evitar o encurtamento do músculo devido ao resfriamento rápido das carcaças. O efeito da estimulação elétrica na maciez se dá pela aceleração do processo de rigor, com ativação das proteinases que tornam o músculo macio (Etherington, 1984).

Asgar & Yeates (1978) afirmaram que o processo de amaciamento através da maturação promove reconhecidamente a maciez. A definição de tal processo é dada por Kubota *et al.* (1993) como sendo a técnica de manter a carne sob refrigeração, em torno de 0°C, até torná-la macia e melhorar outras qualidades organolépticas, como por exemplo, o sabor. Outro aspecto importante na maturação é a necessidade de embalagem à vácuo, que retarda o crescimento de bactérias aeróbicas putrefativas e favorece o crescimento das bactérias lácticas, que por sua vez, produzem substâncias antimicrobianas (Passos, 1992).

Um outro método que visa o amaciamento da carne bovina, é o tratamento com ácidos orgânicos. Arganosa & Marriot (1989) demonstraram em seu trabalho que o tratamento com ácidos orgânicos altera as propriedades estruturais do colágeno. Para Rao & Gault (1990) a adição de ácido diminui a força miofibrilar e do tecido conectivo.

Sendo a maciez da carne bovina uma questão de âmbito mundial e, objeto de estudo como atributo sensorial mais importante, depois da cor (Etherington, 1984; Oreskovick, 1992 e Takahashi, 1992). E ainda, considerando que uma carcaça bovina apresenta cerca de 25% do seu peso em cortes reconhecidos como nobres e macios (Benito-Delgado *et al.*, 1994), propõem-se estudar o efeito da maturação, estimulação elétrica, injeção de ácidos e tenderização mecânica, sobre a maciez do

Triceps brachii, que se encontra na parte dianteira da carcaça e não recebe a classificação de corte comercial nobre.

2. OBJETIVO

O presente trabalho tem o objetivo de avaliar o efeito da maturação, estimulação elétrica, injeção de ácidos e tenderização mecânica sobre a maciez do músculo *Triceps brachii*. Para tanto, propõe-se a avaliação objetiva e subjetiva de maciez, com monitoramento das modificações químicas, físicas e sensoriais que venham a ocorrer pela aplicação das técnicas em estudo.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Estrutura muscular

Para se compreender o fenômeno do amaciamento da carne bovina é necessário conhecer a estrutura funcional do músculo vivo. Embora complexa, tal estrutura, pode ser estudada como um sistema composto por fibras musculares e tecido conectivo. As primeiras realizam o fenômeno da contração e o segundo envolve as fibras musculares mantendo-as unidas, além de ser responsável pela fixação do músculo ao esqueleto.

Primeiramente é necessário lembrar que a carne é obtida dos músculos estriados de vertebrados. Esses músculos são formados por feixes de fibras musculares envolvidas por um revestimento de tecido conectivo chamado epimísio (Takahashi, 1996). O perimísio consiste na combinação de pequenas unidades de tecido conectivo e vasos sanguíneos ou nervos, situados dentro do epimísio. O endomísio é a porção de tecido conectivo que envolve cada fibra muscular.

A célula muscular é a unidade contrátil do músculo esquelético, e cuja característica é ser multinucleada e apresenta grande variabilidade em comprimento e largura. Seu diâmetro depende das características do animal, como idade, sexo, estado nutricional, dieta, espécie, exercício físico e tipo de músculo. A célula muscular consiste de sarcolema, mitocôndria entre outras organelas, porém, há predominância de um arranjo único de filamentos protéicos, retículo sarcoplasmático e partículas de glicogênio. Os filamentos, por sua vez, consistem de filamentos finos chamados de actina e os grossos chamados de miosina. A actina está presa a uma estrutura chamada linha Z, a miosina está ligada entre dois filamentos de actina, numa porção mediana

chamada linha M. A distância entre duas linhas Z, onde aparece esse arranjo estrutural é chamado de sarcômero, encontrando-se a banda A onde estão os filamentos de miosina e a banda I onde estão os filamentos de actina (Bechtel, 1986).

Outra estrutura importante é o sistema de túbulo transversal (túbulo - T), uma série de invaginações do sarcolema, cuja função é levar o evento da despolarização de membrana do sarcolema para regiões internas da célula muscular. Formando uma matriz envolvendo a miofibrila entre os túbulos - T está o retículo sarcoplasmático, cujo principal função é liberar ou seqüestrar cálcio dentro da célula muscular. Os lisossomos que contém proteinases, nucleases, glicosidases, lipases, fosforilases e fosfatases estão envolvidos com a digestão intracelular e a renovação de componentes bioquímicos (Bechtel, 1986).

O músculo esquelético é composto por fibras, as quais são constituídas por miofibrilas, cuja unidade estrutural é o sarcômero. No sistema miofibrilar encontram-se várias proteínas (Kubota *et al.*, 1993):

- filamento grosso: miosina, proteínas C, M, I, F e titina
- filamento fino: actina, tropomiosina, troponina, β e δ -actinas e titina
- linha Z: eu-actinina, desmina, filamina, vitemina e sinemina
- banda I: nebulina

Uma nova teoria, ainda muito controversa, foi proposta por Locker *et al.* (1977) a qual incrementa o arranjo estrutural do músculo com os filamentos “gap” que atravessam um sarcômero e liga linhas Z adjacentes. Acredita-se que os filamentos “gap” influenciam a força da estrutura miofibrilar cujo principal componente protéico é a conectina. Sugere-se que a conectina mantém a integridade da estrutura após o cozimento, enquanto que outras proteínas, como actina são instáveis ao aquecimento (Shorthose & Harris, 1992).

3.2. Aspectos bioquímicos da conversão do músculo em carne.

3.2.1. Repouso e contração

No músculo vivo, os reflexos de contração e relaxamento são respostas a estímulos físicos e químicos. Quando uma fibra muscular está em repouso, o local de fixação da miosina no filamento de actina está bloqueado pela tropomiosina e desta forma não há interação dos dois filamentos. Nesta fase, a concentração de cálcio intracelular está abaixo do limiar para formar o complexo com a troponina (Gürtler *et al.*, 1984).

No momento do estímulo da contração, os receptores que controlam os canais de cálcio são ativados e se abrem permitindo a saída de cálcio do retículo sarcoplasmático para o sarcolema, assim o nível sarcoplasmático de cálcio se eleva rapidamente numa concentração capaz de saturar os locais de fixação na troponina. O complexo cálcio-troponina desloca a tropomiosina, permitindo a interação da miosina nos locais de ativos expostos das moléculas de actina. A energia liberada pela hidrólise de ATP em ADP possibilita a rotação da cabeça miosínica e conseqüentemente o deslizamento dos filamentos de actina e miosina. Com a fixação de outro ATP a cabeça de miosina retorna a sua posição original e o deslizamento continua com a fixação da miosina ao local seguinte no filamento de actina (Goll *et al.*, 1988)

Ao final desse processo forma-se o complexo actomiosina. No músculo vivo o metabolismo energético permite que esse complexo seja rapidamente dissociado e seja retomado o estado de repouso muscular (Lawrie, 1985).

3.2.2. Rigor-mortis

Com o abate do animal, e portanto, cessadas a circulação sanguínea e a respiração, não há suprimento de ATP que representa a fonte imediata de energia do músculo. Por isso a actina e a miosina permanecem fixadas num estado chamado de

rigor-mortis, quando os músculos se tornam tensos e inflexíveis (Shorthose & Harris, 1992).

O metabolismo oxidativo que ocorre dentro da mitocôndria e a glicólise anaeróbica são os caminhos da síntese de ATP no músculo vivo. Depois da morte do animal, a glicólise anaeróbica passa a ser o único meio para ressintetizar ATP, através da mobilização das reservas de glicogênio do músculo (Greaser, 1986). Como resultado da glicólise anaeróbica há queda do pH, devido ao acúmulo de ácido lático, cujos valores caem de 7,1 a 7,3 para 5,5, a 5,7 (Etherington, 1984).

Porém a glicólise é insuficiente para evitar a queda dos níveis de ATP e a falência do sistema de bomba de cálcio é inevitável devido a falta de ATP. Assim, os níveis de cálcio não voltam a concentração de repouso (Soares, 1992).

A extensão da queda de pH depende da concentração de glicogênio do músculo no momento do abate e pode variar de acordo, com o animal, músculo e temperatura do músculo. O pH final na resolução do *rigor-mortis*, terá influência na textura, na cor, estabilidade da cor, perda de peso por cozimento, “flavour”, vida útil, perda por exsudado da carne (Shorthose, 1996).

De acordo com Honikel *et al.*, (1983), o valor de pH no início do *rigor-mortis* depende da temperatura, por exemplo a 38°C, inicia-se com valor de pH igual a 6,25 e 50% da concentração de ATP do músculo vivo; a 15°C, o início se dá com pH igual a 5,75 e 25% ATP. Mas entre 10 e 30°C o *rigor-mortis* se completa com pH 5,5 e 0,5µmol/g de ATP.

3.3. Fatores que afetam a maciez

3.3.1. Fatores *ante-mortem*

Um dos principais fatores que afetam a maciez da carne é o “stress” causado por práticas inadequadas de manejo dos animais antes do abate. Seus efeitos adversos na qualidade da carne não podem ser revertidos nem mesmo em condições ideais de processamento de carcaças pós-abate (Shorthose, 1996).

As proteínas miofibrilares e as proteínas do tecido conectivo (colágeno) são responsáveis pelas características da textura da carne. As primeiras promovem o endurecimento da carne quando o manuseio da carcaça não é bem conduzido ou, antes disso, quando o animal sofre o “stress” antes do abate (Etherington, 1984, Kubota *et al.*, 1993). Por sua vez, o tecido conectivo influencia a textura devido a variações na concentração, solubilidade e estabilidade da molécula de colágeno.

No período *post mortem* os últimos traços de oxigênio são consumidos em 3 minutos, a partir desse momento, as reservas de energia dos músculos são mobilizadas num processo anaeróbico de conversão do glicogênio em ácido láctico, causando seu acúmulo e a queda do pH do músculo. A extensão e a curva da queda do pH depende da temperatura do músculo, do animal e principalmente, da concentração de glicogênio do músculo no momento do abate. Normalmente, em animais saudáveis conduzidos ao abate em condições mínimas de “stress”, o pH final chega a 5,5 quando as enzimas responsáveis por esse processo são inibidas, mesmo que ainda haja glicogênio no músculo. Porém, em animais estressados ou doentes, com concentrações menores que 600mg de glicogênio por 100g peso úmido de músculo, o pH final é mais elevado podendo estar próximo dos valores do músculo vivo, cuja consequência é o fenômeno chamado DFD ou “darker, firmer, dry”, que significa, carne escura, dura e seca (Shorthose, 1996).

Purchas (1990) sugere que valores moderados de pH estão relacionados com aumento da textura, devido ao encurtamento do sarcômero, mas reconhece que essa hipótese deve ser melhor investigada.

3.3.2 .Tecido conectivo

A influência das proteínas do tecido conectivo sobre a maciez é resultado das fibras de colágeno que formam uma rede, cujo papel é sustentar a estrutura muscular envolvendo os feixes de fibras musculares e também cada célula (Takahashi, 1996). O tecido conectivo é formado principalmente pelo colágeno, além de outros componentes de menor proporção como elastina, glicoproteínas e proteoglicanas.

Com o aumento da idade do animal, as fibras de colágeno ganham maior estabilidade mecânica e a solubilidade do colágeno diminui (Kubota *et al.*, 1993). O comprimento do sarcômero de animais de diferentes idades não apresenta diferença significativa. Esse resultado sugere que a diminuição da maciez com o avanço da idade é consequência do aumento dos “cross-links” de colágeno estáveis ao calor, assim como aumenta a força das fibras de colágeno termolábeis (Shorthose & Harris, 1992).

A intensidade da influência do colágeno, sobre a maciez, depende da força das fibras de colágeno e da estrutura anatômica dessas fibras dentro de cada músculo (Shorthose & Harris, 1992). Músculos de diferentes localizações anatômicas variam em textura, de acordo com as mudanças que ocorrem nas estruturas responsáveis pela maciez, quer seja as fibras musculares ou o tecido conectivo (Cross *et al.*, 1973, Shackelford *et al.*, 1995, Dransfield, 1977).

Rowe (1974) demonstrou que a contração miofibrilar muda o ângulo entre as fibras de colágeno localizadas dentro da lâmina de tecido conectivo do epimísio que sustenta o feixe de fibras musculares. O efeito dessa mudança nas propriedades físicas da carne cozida ainda não foi elucidado. Pouca atenção tem sido dedicada ao estudo da disposição intramuscular do colágeno, sobre a maneira como difere na contração miofibrilar ou sobre músculos diferentes (Shorthose & Harris, 1992).

Segundo Huff & Parrish (1993), a idade e o sexo do animal também podem ser considerados fatores que influenciam a maciez, embora não tenham encontrado evidências para comprovar a contribuição do sexo do animal na maciez. Fernandes (1997) explica que os músculos de animais mais velhos têm alto teor de colágeno termoestável, e que machos inteiros e vacas leiteiras vão para o abate quando perderam a produtividade devido ao avanço da idade.

3.3.3. Temperatura

Um importante avanço nos estudos sobre a influência da temperatura na maciez da carne foi a descoberta do encurtamento pelo frio ou “cold shortening” (Locker & Hagyard, 1963). Esse fenômeno ocorre quando as carcaças são refrigeradas

rapidamente atingindo temperaturas menores que 10°C antes da resolução do *rigor mortis*, ou seja, com pH do músculo próximo de 7,0 e níveis de ATP de ponderado a alto (Soares, 1992). Um recente levantamento (Shorthose & Harris, 1992) comprovou que o encurtamento pelo frio é altamente dependente da temperaturas pois, músculos removidos logo após o abate e mantidos em temperaturas diferentes, apresentam 10-15% de encurtamento a 15°C, o encurtamento aumenta para 30% a 37°C, e chega a 40-50% quando a temperatura está em torno de 0°C. No entanto, o encurtamento pode alcançar 70% se os músculos forem congelados antes do estabelecimento do *rigor mortis*, nesse caso o *rigor* se completará durante o descongelamento, seguido de grande quantidade de exsudado devido a ruptura estrutural do músculo.

Segundo Shorthose (1996), qualquer fator que influencie a taxa de resfriamento do músculo, também afetará a taxa de encurtamento, alguns deles são:

- disposição do músculo para encurtar (como exemplo a maneira convencional de pendurar a carcaça pelo tendão de Aquiles, que deixa alguns músculos livres para encurtar),
- taxa de resfriamento (dependendo do sistema de refrigeração, velocidade e temperatura do ar do compartimento frigorífico),
- peso da carcaça e gordura de cobertura (que influencia a taxa de penetração do frio na carcaça),
- posição anatômica do músculo na carcaça (quanto mais exposto, maior a queda de temperatura),
- taxa de resolução do rigor-mortis.

Contudo, o emprego de altas temperaturas pode também ocasionar encurtamento das fibras, num fenômeno chamado “rigor-shortening” que ocorre em temperaturas maiores que 30°C, com pH entre 6,3 e 6,0 e com concentração de ATP a 50% no músculo. É pois, diferente do “cold shortening”, que acontece em temperaturas menores que 10°C, pH em torno de 7,0 e em concentração normal de ATP no músculo vivo (Petäjä *et al.*, 1985).

Bruce & Ball (1990) concluíram que no início do *post-mortem*, temperatura moderada faz com que o declínio do pH seja lento, podendo evitar o *rigor-*

shortening, ou seja, o encurtamento devido ao emprego de altas temperaturas, proposto por Honikel *et al.* (1983). O declínio lento de pH pode permitir aumento da atividade das proteases dependentes de cálcio (Bruce & Ball, 1990). Petäjä *et al.* (1985) demonstraram que nas primeiras 3 horas após o abate, temperaturas entre 37 a 42 °C resultam numa carne mais macia do que em temperatura entre 0 e 2°C.

A gordura de cobertura ou gordura subcutânea pode ser considerada um coadjuvante no processo de amaciamento da carne. O que ocorre é que as carcaças ficam protegidas da queda brusca de temperatura devido ao isolamento térmico promovido pela camada de gordura. No entanto o efeito desse fator sobre a maciez ainda é questionável (Koochmaraie *et al.*, 1988). Na verdade, quando a gordura subcutânea é removida a carcaça fica exposta a uma situação que pode favorecer o “cold shortening”, ou seja, situação de temperatura igual ou menor a 10°C e pH igual ou maior que 6,0 (George *et al.*, 1980).

Ainda sobre temperatura é importante considerar que as vesículas de enzimas lisossomais são rompidas quando a carne permanece em temperatura próxima ao do músculo vivo nas primeiras horas após o abate; neste momento a sua ação é intensificada porque o pH e a temperatura estão ótimos para sua atividade (Moeller *et al.*, 1977).

3.3.4. Enzimas

Após a morte do animal, existem dois grupos de proteinases que podem ser ativadas pelas mudanças de pH, as proteinases neutras e as catepsinas.

O primeiro grupo apresenta maior taxa de atividade em pH próximo de 7,0 e geralmente, não é limitada pela membrana (Greaser, 1986). Essas enzimas também são chamadas calpaínas, ou, enzimas dependentes de cálcio, cuja classificação é: calpaína I, quando são ativadas em concentração micromolar de cálcio, e calpaína II, quando ativadas em concentração milimolar (Quali & Talmat, 1990).

A temperatura e a concentração de cálcio livre nas células musculares são fatores determinantes das atividades das proteinases. O declínio rápido da

temperatura pode induzir a queda da atividade enzimática e a ausência da bomba de cálcio, após a morte do animal, permite que a concentração de cálcio livre se equilibre pelo tecido e ative as proteinases dependentes de cálcio (Dransfield, 1993). Outra característica importante no estudo das calpaínas é o fato de serem susceptíveis a autoproteólise, evitando a degradação excessiva das proteínas musculares (Koochmaraie, 1992, Kubota *et al.*, 1993).

A taxa de ativação das calpaínas depende da sua inativação pelas enzimas antagônicas, as calpastatinas e da autoproteólise devido a presença suficiente de cálcio (Dransfield, 1993). Segundo Kubota *et al.* (1993), a diferença de valores para maciez, entre as espécies ou raças, pode ser explicada pela relação entre as calpaínas e as calpastatinas. Como exemplo podem ser descritas as relações entre calpastatinas e calpaínas igual a 2,0 para bovinos, 1,2 para ovinos e suínos igual a 0,7.

O envolvimento das calpaínas no processo de amaciamento da carne é proposto pela degradação da troponina - T, degradação da linha Z, degradação de colágeno e a evidência de serem ativadores de enzimas não dependentes de cálcio que aumentam a susceptibilidade das miofibrilas a fragmentação (Greaser, 1986).

O segundo grupo, das catepsinas, foi descoberto entre 1970 e 1981, embora haja registro de seus efeitos desde 1907. Elas normalmente se encontram dentro dos compartimentos da membrana no músculo vivo e são ativadas em pH baixos. Acredita-se que são capazes de digerir o tecido miofibrilar e o tecido conectivo, porém ainda existe muita controvérsia sobre sua ação (Velazco, 1995).

As catepsinas também são conhecidas como proteinases lisossomais ácidas, pois, sua atividade se inicia em pH abaixo de 6,0. As catepsinas são inibidas pelas cistatinas. Alguns autores sugerem que essa ação inibidora é significativa, por isso a atividade das catepsinas é pouco reconhecida no processo de maturação (Velazco, 1995). Um mecanismo de cooperação entre dois grupos de proteinases que atuam no sistema enzimático de amaciamento da carne é sugerida para explicar o envolvimento dessas enzimas (Dransfield *et al.*, 1992).

Segundo Soares (1992), as proteases que se encontram fora da fibra muscular são responsáveis pela degradação do colágeno ou de mucoproteínas e as

enzimas que estão dentro da célula são as catepsinas A, B, C, D, H e L, carboxipeptidases lisossomais B e o sistema de proteinases dependentes de cálcio, que são as responsáveis pelo amaciamento. Embora a proteólise das proteínas miofibrilares não tenha sido bem definida, o sistema enzimático tem sido considerado como responsável pelo processo de amaciamento da carne.

Para Quali & Talmat (1990), existe uma relação entre a maturação e a eficiência das calpaínas, que podem ser chamadas de calpaína I quando são ativadas pela concentração micromolar de cálcio ou calpaína II ativada em concentração milimolar de cálcio. Suas investigações comprovaram a relação positiva entre taxa de maturação e a relação de calpaínas II/calpastatinas, além da relação negativa para o conteúdo de calpastatinas.

Outra consideração, é sobre o fato da carne zebuína ser mais dura do que a carne do gado europeu, isto porque, a relação entre calpastatina/calpaínas é maior na raça *Bos indicus* do que na *Bos taurus* (Kubota *et al.*, 1993).

3.3.5. Outros fatores

Shorthose (1996) considera que a alimentação do animal tem efeito muito pequeno na maciez da carne se for comparado com outros fatores como “stress” pré-abate e condições de processamento da carcaça. Na verdade, a quantidade energética de dieta pode influenciar o tamanho da carcaça e a quantidade de gordura, que por sua vez influenciarão a taxa de resfriamento da carcaça. Porém, a gordura intrafascicular pode tornar a carne mais macia, porque impede o ressecamento do músculo durante a cocção (Ornellas, 1988).

O temperamento de algumas raças pode também ser considerado como um fator que influencia a maciez da carne, pois a facilidade de domesticação de um animal colabora para diminuir o “stress” no seu manejo (Shorthose¹).

¹ Shorthose, W.R. Anotações de curso proferido no Seminário “Avanços e Perspectivas em Tecnologia de Carnes”. Outubro de 1996, promovido pelo Centro de Tecnologia de Carnes do Ital - Campinas, SP.

Os β -adrenérgicos utilizados como promotores de crescimento na suplementação da dieta do animal, de fato aumentam a taxa e eficiência de crescimento através da hipertrofia muscular. No entanto, a desvantagem do uso dos β -adrenérgicos aumenta a atividade das calpastatinas que por sua vez inibem a atividade das calpaínas, diminuindo a taxa de degradação protéica que promove a maciez dos cortes cárneos (Wheeler & Koohmaraie, 1992).

O método de pendura da carcaça é outro fator que pode contribuir para o amaciamento da carne, pois o método convencional de pendura pelo tendão de Aquiles permite que alguns músculos permaneçam contraídos durante o rigor-mortis com encurtamento do sarcômero e aumento do diâmetro da fibra muscular, a exemplo do *Longissimus dorsi* (Smith *et al.*, 1971). Métodos de suspensão da carcaça pela pélvis evitam essa situação permitindo que os músculos fiquem relaxados e portanto resultem numa carne mais macia (Takahashi, 1992).

3.4. Métodos para amaciamento da carne

3.4.1. Maturação

O processo de maturação pode ser descrito de forma clara e objetiva, como sendo o emprego das variáveis, tempo e temperatura, a fim de que as enzimas, presentes naturalmente na carne, promovam o amaciamento e o desenvolvimento de outras características organolépticas desejáveis, como o “flavour” (Kubota *et al.*, 1993, Crouse & Koohmaraie, 1990). Para tanto, existem limites máximo e mínimo de temperatura, ou seja, abaixo de 0°C a carne começa a congelar e suas enzimas naturais responsáveis pela maturação são inativadas e por outro lado, temperaturas de refrigeração altas podem favorecer o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis. Assim, o processo de maturação exige um tempo para que seus efeitos possam ser reconhecidos através de análises físicas e sensoriais, mas por outro lado, o limite máximo para o tempo se estabelece quando começam a surgir efeitos indesejáveis nas qualidades organolépticas da carne, como cor, sabor e odor.

Outra consideração importante sobre carne maturada é a necessidade de embalagem a vácuo com a finalidade de retardar o desenvolvimento de bactérias putrefativas e favorecer o desenvolvimento das bactérias lácticas, além de diminuir ao mínimo a perda de peso por evaporação. Muitos autores comprovaram que a técnica da embalagem de carnes à vácuo, permite que a condição anaeróbica imposta ao produto promova a predominância das bactérias lácticas sobre os microrganismos deterioradores aeróbicos como as *Pseudomonas* (Newsome et al., 1984). Por isso, esse método de embalagem vem sendo largamente empregado pela indústria da carne, pois, seus efeitos cumulativos aumentam a vida de prateleira do produto, os quais são: (a) redução da concentração de oxigênio; (b) elevação da concentração de dióxido de carbono; (c) pH da carne normalmente baixo; (d) temperaturas baixas de armazenamento; (e) atividade antimicrobiana dos lactobacilos (Bell & Garout 1994). Porém, a superioridade da qualidade da carne embalada a vácuo depende do rigoroso controle higiênico e monitoramento da temperatura desde o abate até o consumo da carne (Passos, 1992). Segundo Gill (1996), retardar a deterioração bacteriana exige atenção à obtenção da matéria-prima em condições higiênicas, ao controle da temperatura e ao uso de embalagens de preservação. A contaminação da carne durante o processo de abate e processamento é praticamente inevitável. Em sendo a carne um excelente meio de desenvolvimento, ela sofrerá rápida deterioração a menos que seja mantida em baixas temperaturas, evitando o crescimento de microrganismos deterioradores. (Bell & Garout, 1994)

Segundo Asghar & Yeates (1978), a formação de ácido láctico devido a degradação do glicogênio provoca a queda do pH de 7,3 para aproximadamente, 5,5 no espaço extracelular. Esse fato diminui a dissociação de eletrólitos fracos e aumenta a permeabilidade da membrana citoplasmática, facilitando a difusão de enzimas citoplasmáticas e diminuindo a coesividade da miofibrila com ruptura de organelas citoplasmáticas principalmente os lisossomos e retículo endoplasmático. A consequência dessas modificações bioquímicas é a diminuição da coesão entre as miofibrilas e aumento da maciez.

Baseado nas referências citadas em seu trabalho, Koohmaraie (1994) concluiu que a principal causa do processo de amaciamento em carne de animais de mesma idade é a degradação da proteína miofibrilar. Ele ainda sugere que para haver a participação de uma enzima nas reações que ocorrem no *post-mortem* e que promovem a maciez, é preciso porém, que ela preencha alguns requisitos, como o fato de estar contida nas células do músculo esquelético, ter acesso ao substrato, ou seja, à miofibrila e ter capacidade de degradar as proteínas que promovem a maciez durante a maturação (Koohmaraie, 1994). Cada grupo de enzima tem seus inibidores naturais. As catepsinas são inibidas pelas cistatinas e as calpaínas são inibidas pelas calpastatinas. No entanto, as cistatinas se encontram na mesma concentração que as catepsinas, ao contrário das calpastatinas em relação às calpaínas. Essa pode ser menor ou maior dependendo da raça, como no caso das raças Brahman, Nelore, InduBrasil e Gir (*Bos indicus*) cuja concentração de calpastatina é maior do que em Hereford, Angus, Charolês e Northhorn (*Bos taurus*) (Velazco, 1995).

Muitos trabalhos comprovam o efeito da maturação sobre a maciez, porém a maneira como se dá o amaciamento ainda é obscuro (Koohmaraie, 1992, Lanari *et al.*, 1987, Boakye & Mittal, 1993a). Na verdade, considera-se que o estabelecimento do *rigor mortis* é a explicação para o processo de amaciamento (Kubota *et al.*, 1993), pois neste momento o tecido muscular está sendo convertido em carne pela ativação das enzimas proteolíticas, que desencadeiam uma série de reações, destruindo a estrutura física do músculo, através da dissolução da linha Z, desaparecimento da troponina T e digestão da desmina e da titina (Velazco, 1995).

Para Koohmaraie (1992), o sistema enzimático mais importante na proteólise *post-mortem* é representado pelas calpaínas (Koohmaraie, 1994). Logo após o abate, as calpaínas são ativadas porque a bomba de Ca deixa de funcionar, permitindo o equilíbrio entre a concentração de Ca^{2+} livre e a do tecido (Etherington, 1984).

O sistema calpaínas tem dois subgrupos, a μ -calpaína que depende de alta concentração de Ca^{2+} e a m-calpaína que depende de baixa concentração de Ca^{2+} (Velazco, 1995, Kubota *et al.*, 1993). Esse sistema de enzimas têm a propriedade de

autólise, pois a exposição excessiva em quantidades suficientes de Ca^{2+} causa a inativação da enzima e até destruição desta (Koohmaraie, 1992).

A μ -calpaína também chamada de calpaína II requer concentração micromolar de Ca^{2+} para ser ativada e a m-calpaína, ou calpaína I requer concentração milimolar de Ca^{2+} . Os resultados apresentados por Quali & Talmat (1990), comprovam a relação positiva entre taxa de maturação e a razão calpaína II/calpastatina e relação negativa entre taxa de maturação e conteúdo de calpastatina.

Segundo Dransfield (1993), a atividade das calpaínas depende da temperatura, do pH e do nível da calpaínas ativadas livres. Esse último item é determinado pelo balanço entre declínio das calpaínas ativadas, sua inibição pelas calpastatinas e sua inativação quando em concentrações suficientes de íons cálcio. A ativação das calpaínas é iniciada pelo aumento da concentração de cálcio. A relação entre as calpaínas e suas inibidoras, as calpastatinas, determina o nível de calpaínas ativadas. Em seguida, a excessiva exposição ao cálcio, provoca a autólise das calpaínas ativadas, quando há inativação das calpastatinas e finalmente, observa-se o efeito do sistema calpaína promovendo o amaciamento da carne pela proteólise dos componentes estruturais do músculo.

O aumento da concentração sarcoplasmática de íon cálcio tem dupla função: quando atinge níveis entre 3 e 5 μM induz a contração no rigor e quando alcança 0,1 mM promove a ruptura da estrutura miofibrilar dos filamentos intermediários de desmina e possivelmente do endomísio e perimísio (Takahashi, 1996).

3.4.2. Estimulação Elétrica

O estudo da estimulação elétrica em carne é datada de 1790 (Bendall & Rhodes, 1980) entretanto, em 1749 o efeito da eletricidade em carne de aves já havia sido registrado por Benjamin Franklin, cujo resultado foi o aumento da maciez da carne. Já em 1951 surge a primeira patente industrial e finalmente em 1963, a estimulação elétrica ganha o interesse da indústria após a descoberta do encurtamento pelo frio (Locker & Hagyard, 1963). A influência do frio na rigidez da carne também foi

confirmada por Marsh & Leet (1966) e Marsh *et al.* (1968), os quais demonstraram que o encurtamento pelo frio (ou “cold-shortening”) causava um grave problema de maciez de carcaças de cordeiro, que eram congelados no estado *pré-rigor*. Por isso postulou-se que era necessário um período de espera para ocorrer a resolução do *rigor* antes da carne ser submetida a baixas temperaturas.

A série de eventos que resulta no “cold-shortening” do músculo *pré rigor* foi resumida por Cornforth *et al.* (1980). O resfriamento é um estímulo direto, que provoca a liberação do excesso de cálcio pelas mitocôndrias já saturadas, sobrecarregando as membranas do retículo sarcoplasmático cuja capacidade de reter cálcio está diminuída devido a temperatura baixa e queda do pH do músculo. O excesso de cálcio e o ATP liberado permitem a interação da actina e da miosina produzindo o encurtamento. Como o retículo sarcoplasmático já está saturado e a bomba de cálcio não está em atividade, a interação torna-se permanente. Isso deixa o músculo permanentemente encurtado e provoca o enrijecimento que é característico do “cold-shortening” (Pearson & Dutson, 1985).

A estimulação elétrica acelera o início da glicólise *post-mortem* e *rigor-mortis* (Taylor & Cornell, 1985). Segundo Takahashi (1992), o uso de energia elétrica centenas de vezes maior do que a estrutura corpórea pode suportar, causa danos à membrana celular, violenta contração e extensa fragmentação das fibras contráteis e do tecido conjuntivo. O mesmo autor completa, afirmando que os efeitos da estimulação elétrica só poderão ser evidenciados no início do *post-mortem*. Chrystall *et al.* (1980) sugerem que o sistema nervoso começa a perder a sensibilidade à corrente elétrica 30 minutos após a morte

Soares (1992) elaborou algumas conclusões baseado nas referências citadas em seu trabalho, que são as seguintes: a maioria dos processos de estimulação elétrica duram mais de 60 segundos o que torna inviável sua instalação na linha de abate, tanto a alta como a baixa voltagem aumentam a velocidade de declínio do pH e a intermitência da corrente elétrica pode provocar contrações ritmadas e aumentar o efeito do declínio do pH.

Durante a estimulação elétrica, o músculo é submetido a ciclos de contração e relaxamento contínuos, o que exige energia na forma de ATP, que por sua vez estaria se esgotando induzindo a glicólise anaeróbica a ocorrer mais cedo, assim como a instalação do *rigor-mortis* (Davey *et al.*, 1976b).

Marsh *et al.* (1981) demonstraram que a estimulação de 2Hz AC (500V, 5 min) provocou uma queda brusca de pH entre 5,43 e 5,65 enquanto os controles apresentaram pH entre 5,45 a 6,62, além de carne mais macia do que a estimulada. A conclusão dos autores foi que a baixa frequência previne a ruptura física do tecido e portanto, pode ser favorável à maciez por causa da glicólise lenta em pH muscular alto, no período inicial do *post-mortem*.

Marsh *et al.* (1987) que combinaram estimulação elétrica e várias condições de resfriamento, concluíram que ao eliminar o efeito do “cold-shortening”, a carne que apresentar pH igual a 6,1 após 3 horas do abate, provavelmente, será carne macia, independente de ser carne estimulada ou não.

Outro fator importante na otimização do processo da estimulação elétrica para carne vermelha é que os pulsos das correntes não ultrapassem 3.000 (Bendall & Rhodes, 1976).

Muitas teorias são propostas para explicar o efeito benéfico da estimulação elétrica sobre o amaciamento da carne, a teoria melhor aceita é a prevenção do *cold-shortening* pela aceleração da glicólise.

Soares (1992) resume que o efeito da estimulação elétrica é resultado da aceleração da glicólise e hidrólise de ATP, que causa a queda do pH, quando a carcaça ainda se mantém em altas temperaturas. Assim, promove-se a formação de ácido láctico fosfato inorgânico e calor. O pH baixo em temperatura alta provoca a ruptura da membrana lisossômica liberando enzimas que atuam na degradação de componentes miofibrilares.

Porém, a atuação das enzimas lisossomais gera polêmica, porque estudos demonstraram que mesmo com estimulação elétrica e 28 dias de refrigeração a 4°C, as enzimas lisossomais ainda se encontram dentro dos lisossomos, fazendo concluir que tais enzimas não têm importância significativa no processo. Porém, deve-se lembrar

que o tempo da ação das calpáinas que são ativadas em pH neutro, é menor devido a aceleração do *rigor-mortis* causada pela estimulação elétrica (Koochmaraie 1994).

A estimulação elétrica sofreu disseminação mundial em pouco tempo, sem mesmo um respaldo científico e conhecimento sobre o mecanismo de atuação e suas implicações (Takahashi, 1992). Ainda hoje existe muita controversia sobre o assunto, como relatam Lyon *et al.* (1983) cujo trabalho não encontrou benefícios na maciez dos músculos *Triceps brachii* e *Psoas major* com a estimulação elétrica.

Uma das classificações para estimulação elétrica é a baseada na voltagem sendo alta voltagem de 200 a 900V por 60 a 120 seg, baixa voltagem entre 40 a 90V por 30 a 70 seg. As frequências variam de 1 a 60Hz (Li *et al.*, 1993).

3.4.3. Tratamento com ácidos

A indústria de produtos cárneos utiliza matéria-prima de cortes comerciais de menor valor, o que implica em pouca maciez devido a grande quantidade de tecido conectivo presente. Algumas substâncias têm sido pesquisadas para minimizar os problemas de textura visando a degradação do colágeno intrínseco (Arganosa & Marriot, 1989), como as proteinases de plantas, papaína, bromelina e ficina (Kang & Rice, 1970) e colagenase de bactérias (Foegeding & Larick, 1986). Porém, tais substâncias hidrolisam, preferencialmente, as proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares, o que provoca uma degradação extensa da estrutura muscular, tornando a qualidade da textura indesejável.

É neste contexto que surgem os ácidos orgânicos como tenderizadores de carnes. Wenham & Locker (1976) explicam que o termo marinado surgiu do costume de elaborar pickles de peixe em salmoura. Contudo, atualmente esse termo sugere o uso de algum líquido ácido para amaciar e acrescentar “flavour” à carne. Seus ingredientes podem ser óleo, açúcar, condimento e um componente ácido que pode ser vinagre, vinho ou suco de frutas (Oreskovich *et al.*, 1992). Evidências sugerem que os ácidos orgânicos mudam a estrutura do colágeno (Kijowski & Mast, 1993).

Segundo Wenham & Locker (1976), a carne marinada pode sofrer aumento de maciez; para Arganosa & Marriot (1989) a incorporação de ácidos orgânicos em carne de hambúrguer altera as propriedades do colágeno e de outras proteínas. No período *post-mortem* as propriedades termo-químicas do colágeno são alteradas pela queda do pH devido ao acúmulo de ácido lático. O ácido lático pode separar as pontes instáveis a ácidos do colágeno durante o processo de maturação da carne (Asghar & Yeates, 1978).

Nos trabalhos revisados por Kijowski & Mast (1993), encontrou-se que o colágeno consiste de duas frações solúveis, o tropocolágeno que se dissolve em solução de sal neutro e procolágeno que se dissolve em ácidos orgânicos. Whiting & Strange (1990) propuseram que a carne da parte dianteira tem propriedades sensoriais inaceitáveis devido ao conteúdo de tecido conectivo, sendo o colágeno do epimísio é o maior responsável pela textura indesejável da carne, ao contrário do perimísio e endomísio cujas contribuições na textura são menores.

Acredita-se que os ácidos orgânicos ajam nas miofibrilas, durante a marinação, causando o seu entumescimento. Em pH igual a 5,0 há mínima absorção de água pela carne e também uma máxima força de cisalhamento. Portanto, se o pH diminuir pela adição de ácido e houver aumento da capacidade de retenção de água, a estrutura muscular pode ser deformada pela umidade adquirida e tornar a carne mais macia (Seuss & Martin, 1993). A capacidade de retenção de água aumenta tanto em pH baixo, quanto pH alto em relação ao ponto isoelétrico da maioria das proteínas miofibrilares (entre 4,5 e 5,5), o que provoca uma diminuição na força de cisalhamento, ou seja, maior maciez (Oreskovich *et al.*, 1992).

Rao & Gault (1990) estudando os efeitos do ácido acético sobre a textura da carne, encontraram que a marinação influencia com maior efeito os valores de tensão do que sobre os valores de adesão. Assim como, Arganosa & Marriot (1989) estudando os efeitos de ácidos orgânicos sobre o colágeno, constataram que a marinação altera as propriedades do colágeno. Neste caso é importante considerar que a avaliação da medida de adesão é válida para medir a força do tecido conectivo em manter as fibras musculares unidas e que os valores da força de cisalhamento e a força de tensão estão

mais relacionados as propriedades das fibras musculares do que aos componentes do tecido conectivo no músculo cozido (Bouton & Harris, 1972b). Wenham & Locker (1976), também propuseram que existem pontes cruzadas de colágeno sensíveis a ácidos, as quais ao serem quebradas modificam a estrutura do colágeno. Por outro lado, Offer & Trinick (1983) afirmaram que os ácidos orgânicos também agem sobre as miofibrilas durante a marinação.

É conveniente considerar que a marinação diminui substancialmente, os valores de ferro, magnésio e zinco, ao contrário do sódio cujo valor é aumentado (Howat *et al.*, 1983). O conteúdo de tiamina também é alterado quando a carne é marinada em vinho. Quanto maior concentração de dióxido de enxofre no vinho, maior é a perda de tiamina (Skurray *et al.*, 1986). A carne bovina é uma importante fonte de ferro, magnésio, zinco e tiamina, por isso se justifica o estudo dos efeitos da marinação sobre esses elementos.

Para Stanton & Light (1990) o tratamento com ácido láctico melhora as características de músculos de menor valor comercial, principalmente quando utilizado paralelamente a um método de tenderização mecânica que massageie o músculo depois da injeção. Wenham & Locker (1976) concluíram que a marinação realmente promove a maciez de cortes comerciais de baixo custo, mas não traz benefícios significativos para músculos nobres. Os mesmos autores ainda acrescentam que o tratamento com ácido não aumenta a suculência, além de recomendar os bifes submetidos à marinação não ultrapassem 16mm de espessura.

3.4.4. Tenderização mecânica

A tenderização mecânica consiste na penetração de lâminas ou agulhas que rompem a estrutura muscular e conseqüentemente promovem a maciez devido a destruição parcial do tecido conectivo e/ou rompimento das fibras musculares (Benito-Delgado *et al.*, 1994). A fragmentação criada por tais instrumentos pode dificultar a análise objetiva de maciez através da força de cisalhamento (Bowling *et al.*, 1976).

Estudando a confiabilidade dos resultados da análise de força de cisalhamento para a carne tenderizada mecanicamente, Seideman *et al.* (1977) encontraram que o músculo *Semitendinosus* pode ser tão macio quanto o *Psoas major* pela tenderização por duas vezes. No entanto, a análise sensorial não confirmou esse resultado, o que sugere que os provadores podem sentir outros atributos além da resistência ao cisalhamento, que permite estimar a maciez.

Para uma análise coerente de maciez, é necessário conhecer qual componente estrutural é mais afetado pelo tratamento proposto, a fim de escolher o método de avaliação que permita acessar esse componente estrutural (Bouton & Harris, 1972a). Por exemplo, a análise da força de compressão no instron sofre maior influência da força de coesão que mantém as fibras musculares unidas do que da força de própria fibra. Já para a força de cisalhamento, a força de tensão da fibra é mais importante que a força de adesão. Da mesma forma, Cross *et al.* (1973) sugerem que os valores da força de cisalhamento estão mais relacionados com as propriedades da fibra muscular do que com os componentes do tecido conectivo da carne, ou seja, o pico da força determinado pelo cisalhamento no Warner-Bratzler avalia o efeito do tratamento, com maior ênfase, nas fibras musculares do que no tecido conectivo (Seideman *et al.*, 1977).

Para minimizar a influência do plano de fraturas, criada pela tenderização mecânica, sugere-se o uso de vários métodos de medição dos diferentes parâmetros estruturais da carne. Alguns testes podem ser propostos para prognosticar a textura da carne, como: análise da curva de deformação do teste Warner-Bratzler, os testes de compressão e as medidas de adesão (Hayward *et al.*, 1980).

A maciez é considerada uma das principais características organolépticas da carne, porém, somente 25% do peso total da carcaça correspondem aos músculos desejados por sua maciez (Benito-Delgado *et al.*, 1994). Assim, a tenderização mecânica pode ser justificada porque permite a utilização de carne normalmente imprópria para o bife, sem amaciamento enzimático e, tem efeito mais uniforme e mais fácil de controlar do que o método enzimático (Hayward *et al.*, 1980).

A tenderização mecânica pode modificar outras características da carne, como diminuição do tempo de cozimento (Bowling *et al.*, 1976), aumentar a perda de

peso durante a estocagem sem alteração do “flavour”, suculência e avaliação da palatabilidade total (Davis *et al.*, 1977), contudo, não há aumento da exsudação nem das perdas por cozimento (Savell *et al.*, 1977). Ainda, Glover *et al.* (1977), encontraram aumento de perda por exsudação na armazenagem e Davis *et al.* (1977) notificaram um aumento de perda de peso por cozimento, devido à tenderização mecânica. Esses mesmos autores explicam que tal perda pode ser causada pelas fraturas causadas no tecido muscular devido às perfurações de agulhas ou lâminas.

Segundo Seidman *et al.* (1977), a tenderização mecânica não afetou as perdas por descongelamento e cozimento, nem o tempo de cozimento, mas houve diminuição nos valores de força de cisalhamento e da qualidade de tecido conectivo detectável organolepticamente, os autores ainda acrescentam que não há alteração de “flavour” ou suculência e sugerem que os músculos, reconhecidamente, menos macios deverão ser tratados no tenderizador mecânico mais de uma vez. Para Hayward *et al.* (1980), o efeito da tenderização mecânica foi significativo para perdas totais por cozimento.

Quanto ao tempo de cozimento é possível que a tenderização mecânica promova a mobilização externa e/ou intramuscular de gordura durante o cozimento a seco o que permite a rápida condução de calor (Glover *et al.*, 1977).

Ainda que a tenderização mecânica promova a ruptura do tecido conectivo, não é possível utilizar músculos ricos nesse tecido, ainda que tenderizados, em substituição a músculos com pequenas quantidades de tecido conectivo e que não foram tratados (Seidman *et al.*, 1977).

4. EXPERIMENTO 1

4.1. Material e Métodos

4.1.1. Amostras

Foram abatidos 11 bovinos fêmeas com média de peso de carcaça igual a 231Kg (erro padrão = 7,8Kg) e idade de 3 a 4 meses, sendo 5 raça Nelore e 6 raça Guzera, para obtenção de 22 músculos *Triceps brachii* em desossa de 24 horas após o abate. Inicialmente, planejou-se um experimento completamente casualizado, supondo que cada unidade experimental de *Triceps brachii* seria obtida sob as mesmas condições de abate, refrigeração e desossa. O abate dos animais foi realizado em dois dias, cujo fluxograma pode ser visto na Figura 1.

Das 22 unidades experimentais:

- 10 foram obtidas no Abate I, sendo:
 - ♦ 3 para maturação de 9 dias (mat9d),
 - ♦ 3 para maturação de 14 dias (mat14d),
 - ♦ 3 para tratamento com ácido láctico 0,2M (lat02),
 - ♦ 1 para controle (sem tratamento),
- 12 foram obtidas no Abate II, sendo:
 - ♦ 3 para tenderização mecânica (mec),
 - ♦ 3 para tratamento com ácido acético 0,1M (ac01),
 - ♦ 4 para estimulação elétrica (ee),
 - ♦ 2 para controle (sem tratamento).

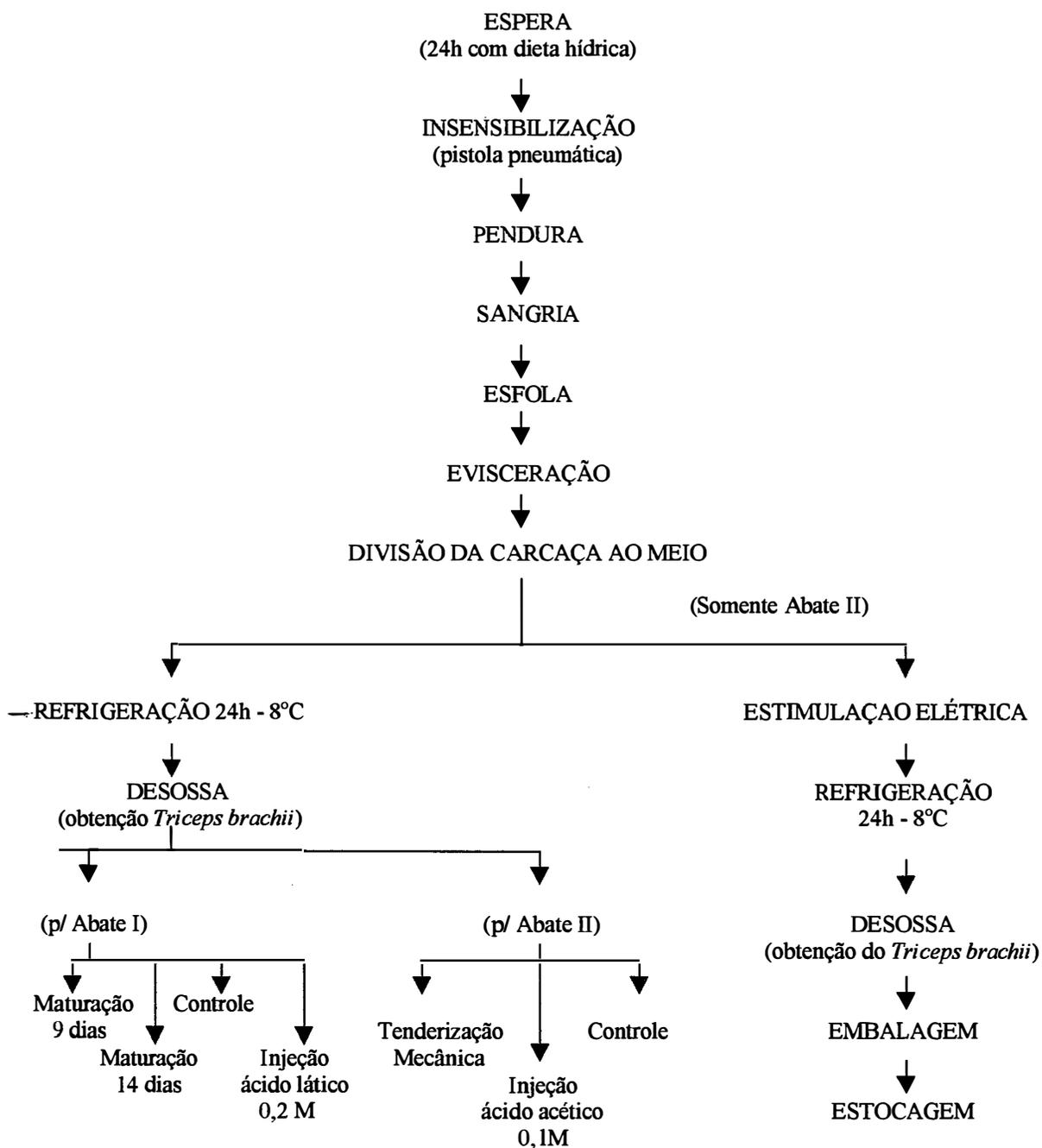


Figura 1. Fluxograma de abate de bovinos e aplicação dos tratamentos do experimento 1.

4.1.2. Tratamentos

4.1.2.1. Controle

As amostras de *Triceps brachii* foram submetidas aos tratamentos 24 horas após o abate. Todas as amostras foram embaladas à vácuo em filme plástico BB300 Cryovar termoencolhível, em seguida foram congeladas a -30°C em armário de nitrogênio por 2 horas e mantidas a -20°C em câmara de congelamento.

4.1.2.2. Tratamento com ácidos

A injeção de ácidos foi realizada com seringas manuais. A quantidade de ácido injetada foi 10% do peso da amostra. Após a injeção de ácido, as amostras foram acondicionadas em filme plástico Cryovac BB300 termoencolhível e mantidas sob refrigeração.

As amostras foram injetadas com ácido láctico 0,2M e ácido acético 0,1M, refrigeradas entre 0°C - 2°C por 24 horas e congeladas como o controle.

4.1.2.3. Estimulação elétrica

A estimulação elétrica aconteceu logo após o abate nas carcaças divididas ao meio. Foi utilizado um estimulador desenvolvido pelo CTC, Centro de Tecnologia da Carne do ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas, SP, que consiste de um transformador, que permite aplicar uma corrente elétrica senoidal, 60Hz, com voltagem de 250V, durante um tempo de 90 segundos. A descarga elétrica percorreu toda a carcaça através de eletrodos instalados no pescoço e na pata traseira. As amostras de *Triceps brachii* foram embaladas à vácuo individualmente e congeladas como o controle.

4.1.2.4. Tenderização mecânica

As amostras de *Triceps brachii* foram fatiadas perpendicularmente às fibras com espessura de aproximadamente 15mm. As fatias foram processadas por 2 vezes em tenderizador mecânico, sendo embaladas à vácuo e congeladas como o controle.

4.1.2.5. Maturação

As amostras de *Triceps brachii* foram embaladas à vácuo (como o controle) e refrigeradas por 9 dias e 14 dias entre 0°C e 2°C. No final do tratamento de 9 dias, as amostras foram congeladas (como o controle) enquanto se completava a maturação das outras amostras.

Neste tratamento além das amostras serem embaladas à vácuo, as embalagens foram termoencolhidas em banho-maria a 80°C por 2 segundos.

4.1.3. Cozimento

As amostras de *Triceps brachii* foram preparadas em fatias de cerca de 20mm e 200g, em seguida foram embaladas em filme CM530 Cryovac e imersas em banho-maria a 83°C por 2 horas. Depois do cozimento, as amostras foram resfriadas em água a 20°C por 30 min. As análises sensorial e de força de cisalhamento foram realizadas nas amostras cozidas que passaram 12 horas sob refrigeração a 10°C

4.1.4. Análises físicas

4.1.4.1. Cor

Para análise de cor foram utilizadas 7 repetições de cada amostra do músculo *Triceps brachii*, evitando a influência da exposição ao ar ambiente sobre a cor

das amostras. O aparelho de leitura de cor utilizado foi MINOLTA Chrome Meter CR 200b. A leitura dos parâmetros L* (luminosidade), a* (intensidade de vermelho) e b* (intensidade de amarelo) foi feita no sistema CIE.

4.1.4.2. Força de cisalhamento

Foram utilizadas 10 repetições cilíndricas de cada amostra de *Triceps brachii* de 1 cm² de área de seção transversal e 2 cm de comprimento. Essas repetições foram coletadas das amostras cozidas mantidas sob refrigeração por uma noite a 10°C após o cozimento. A determinação objetiva de maciez foi realizada pela força de cisalhamento Warner-Bratzler, medida no Instron modelo TM 2318.

4.1.4.3. Perdas de peso por cozimento e por tratamento

A determinação da perda de peso por cozimento foi realizada pela diferença de peso das amostras antes de serem embaladas em filme plástico CB 530 Cryovac para o cozimento e depois do resfriamento após a cocção. A perda devido ao tratamento foi obtida pela diferença de peso antes e depois do tratamento.

4.1.5. Análises bioquímicas

4.1.5.1. pH

Nas primeiras 8 horas após o abate, o método de análise de pH foi realizado da seguinte forma:

- a) De cada meia-carcaça, coletou-se 2,5g dos músculos *Semi membranous*, *Longissimus dorsi* e *Triceps brachii*,
- b) Homogenizou-se por 30 segundos, em 10 ml de solução de iodoacetato no mixer,
- c) finalizando com a leitura de pH.

A partir de 24 horas após o abate, foi usado o pHmetro de punção, diretamente nas amostras *Triceps brachii*.

4.1.5.2. Valor R

As amostras do músculo *Triceps brachii* com aproximadamente 10g foram congeladas em nitrogênio líquido e estocadas a -60°C.

Utilizando-se ácido perclórico 1M, na proporção 1:10, em p/v, efetuou-se a extração de nucleotídeos, em seguida, procedeu-se a homogeneização por 30 segundos, filtração em papel de filtro nº. 1, centrifugação por 5 minutos a 3000 G. Uma alíquota de 0,1 ml de sobrenadante foi diluída com 4,9 ml de tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0. Utilizando-se o tampão fosfato como referência, determinou-se o valor R pela razão das absorbâncias à absorção 250 e 260nm, segundo a metodologia proposta por Honikel & Fischer (1977).

4.1.6. Análise sensorial

Para a análise sensorial das amostras do músculo *Triceps brachii* submetidos aos tratamentos, utilizou-se escala linear não estruturada de 10cm ancorada nos extremos pelos atributos citados abaixo, conforme a Figura 2.

Atributos avaliados:

maciez: percepção da força necessária para, ao morder, obter cisalhamento da amostra - 0=dura, 10=extremamente macia,

suculência: percepção de líquidos exsudados pela carne ao ser mordida (0= pouco suculenta, 10 = muito suculenta);

qualidade global: combinação de sensações gustativas de textura, sabor, líquidos exsudados e aroma percebidas na amostra (0=ruim, 10=excelente).

O teste foi conduzido no laboratório de avaliação sensorial do Centro de Tecnologia de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas (CTC -

ITAL), em cabines individuais computadorizadas, longe de ruídos e odores, utilizando-se o sistema computadorizado desenvolvido pela Compusense, Inc., versão 4.2, específico para avaliação sensorial.

O teste sensorial das amostras foi conduzido em três sessões e com equipe treinada de 7 provadores. Cada provador recebeu 3 pedaços de carne em cubos de aproximadamente $3,5\text{cm}^2$, previamente reaquecidos em forno de microondas (40 segundos em potência máxima) em potes codificados com 3 dígitos aleatórios. Os provadores ainda receberam água e biscoito “água e sal” para enxagüe da boca e para tirar o sabor residual da amostra anterior.

Bem vindo ao Sistema de Avaliação Sensorial Computadorizado do Centro de Tecnologia da Carne.

Você se comunica com o sistema utilizando a caneta óptica.

Para prosseguir pressione a caneta no local indicado

Você irá provar carne de paleta de bovinos

Avalie a maciez, suculência, qualidade global e faça seus comentários

Maciez

Dura

Extremamente Macia

Suculência

Pouco Suculenta

Muito Suculenta

Qualidade Global

Ruim

Excelente

Faça comentários:

.....

Figura 2. Ficha de avaliação sensorial do experimento 1.

O delineamento experimental para apresentação das amostras aos provadores foi o de blocos incompletos balanceados seguindo o plano 11.7 detalhado em Cochran & Cox (1957). A análise estatística dos resultados obtidos foram avaliados através da análise de variância ao nível de 5% de significância e o teste da mínima diferença significativa (LSD test) para comparação de médias.

4.1.7. Análises microbiológicas

As análises para coliformes totais e fecais, bactérias mesófilas, *S. aureus*, bactérias lácticas e bactérias psicrotróficas seguiram as normas metodológicas do Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (1992). Estas análises foram realizadas no tratamento de maturação.

4.1.8. Análise estatística

Os resultados correspondentes as avaliações objetivas foram analisados estatisticamente através da análise da variância, análise de correlação, teste para comparação de médias, histogramas de frequências, diagrama de caixas e tabelas em geral. Utilizaram-se os programas “STATISTICA for Windows” versão 5.0 e “Excel for Windows” versão 97.

4.2. Resultados e Discussão

4.2.1. Avaliações Físicas e Sensoriais

4.2.1.1. Força de Cisalhamento e Maciez subjetiva

Os resultados da força de cisalhamento do músculo *Triceps brachii*, de bovinos fêmeas da raça Nelore, submetidos aos diferentes tratamentos para promover a maciez são apresentados na Figura 3.

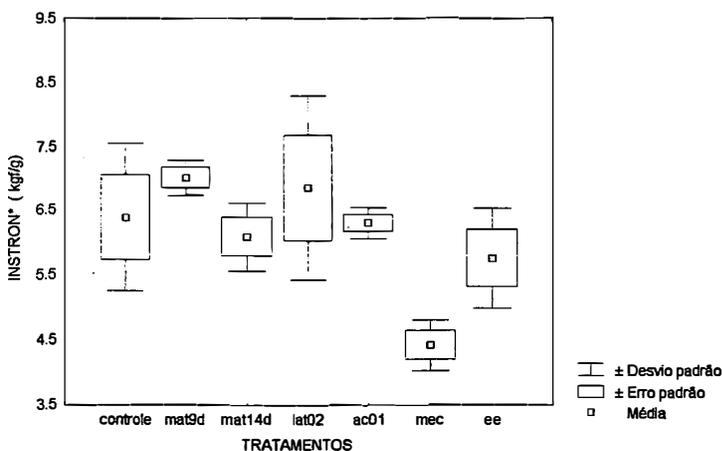


Figura 3. Diagrama de caixas dos valores de força de cisalhamento (INSTRON) das amostras submetidas ao tratamento para amaciamento

Como pode ser observado, a tenderização mecânica foi o tratamento que apresentou a menor média para força de cisalhamento, 4,43 kgf/g (Tabela 1), quando comparado ao grupo controle, que não sofreu nenhum tratamento, cuja média foi 6,40kgf/g. Contudo, essa diminuição de força de cisalhamento é questionável, se considerada como único parâmetro para análise de textura da carne, porque, embora esse seja o método mais utilizado na avaliação objetiva da maciez, o plano de fraturas criado pela tenderização mecânica pode superestimar os valores da força de cisalhamento (Bowling *et al*, 1976), e conduzir a uma conclusão errada.

Tabela 1. Resultados da avaliação Sensorial e Instrumental de propriedades do músculo *Triceps brachii*, segundo a influência dos vários tratamentos.

Atributos Tratamentos	Propriedades							
	N = 18						N = 30	
	Maciez ¹		Suculência ²		Qualidade Global ³		Força de Cisalhamento ⁴	
	M	EP	M	EP	M	EP	M	EP
Controle	5,39	0,61	6,68	0,43	7,18	0,46	6,40	0,66
Maturação 9 dias	5,90	0,29	6,26	0,35	7,22	0,28	7,02	0,16
Maturação 14 dias	6,50	0,53	5,56	0,43	6,66	0,44	5,83	0,30
Acido acético 0,1 M	5,67	0,37	6,07	0,29	7,11	0,35	6,30	0,14
Acido láctico 0,2M	6,13	0,45	6,54	0,54	6,26	0,49	6,87	0,83
Tenderização Mecânica	5,88	0,44	5,49	0,35	6,48	0,28	4,43	0,23
Estimulação Elétrica	6,53	0,12	6,37	0,39	7,86	0,29	5,62	0,39

N = número de amostras

¹ Média de escores para o atributo maciez (0 = extremamente duro e 10 = extremamente macio)

² Média de escores para o atributo suculência (0 = extremamente seco e 10 = extremamente succulento)

³ Média de escores para atributo qualidade global (0 = ruim e 10 = excelente)

M= média

EP= erro-padrão

De acordo com os resultados do painel sensorial, a tenderização mecânica aplicada no experimento 1, apresentou média de maciez igual a 5,88, ou seja, causou pouco efeito na maciez subjetiva quando comparada ao grupo controle, que apresentou média 5,39 (Tabela 1). A combinação de métodos para avaliar a maciez objetiva e subjetiva é indicada para tornar mais precisa a análise de textura. Desta forma, o painel sensorial pode combinar os efeitos das características organolépticas da carne, além da força para cortar a fibra, pois, o ser humano é capaz de compensar áreas perfuradas com outras que estão intactas (Bowling *et al*, 1976). Assim, o painel sensorial avaliou os resultados da tenderização mecânica em 9% de melhora na maciez, enquanto a força de cisalhamento apresentou 31% de diminuição. Seideman *et al*. (1977) encontrou um aumento de maciez subjetiva semelhante, ou seja, 10,3% ao estudar o

músculo *Psoas major*, mas estudando o *Semitendinosus*, encontrou aumento de até 39,0% quando foi processado por 3 vezes no tenderizador mecânico.

A Figura 4, mostra a correlação negativa ($r = -0,52$) entre as médias de força de cisalhamento e as de maciez subjetiva. O grau de correlação não foi estatisticamente significativo ($p = 0,286$). Contudo, tal figura mostra que a avaliação subjetiva de maciez foi consistente.

A estimulação elétrica mostrou uma diminuição de 12% na força de cisalhamento, apresentando média igual a 5,62 kgf/g. No entanto, a maciez subjetiva melhorou em 21%, passando da média igual a 5,39 do grupo controle para 6,53 na carne estimulada. Essa diferença pode ser explicada porque a metodologia para força de cisalhamento mede a máxima força necessária para cortar uma amostra de carne, sendo mais influenciada pela resistência das fibras musculares (Cross *et al.*, 1973), diferente da análise de maciez subjetiva que é influenciada pela força do tecido conectivo e pela força das fibras musculares (Cover *et al.*, 1962). Considerando que a estimulação emprega energia elétrica centenas de vezes maior do que a estrutura muscular pode suportar, é fácil compreender os danos causados à membrana celular com fragmentação das fibras contráteis e do tecido conectivo (Takahashi, 1992). O painel sensorial pode avaliar a influência da estimulação elétrica sobre a maciez de forma mais abrangente.

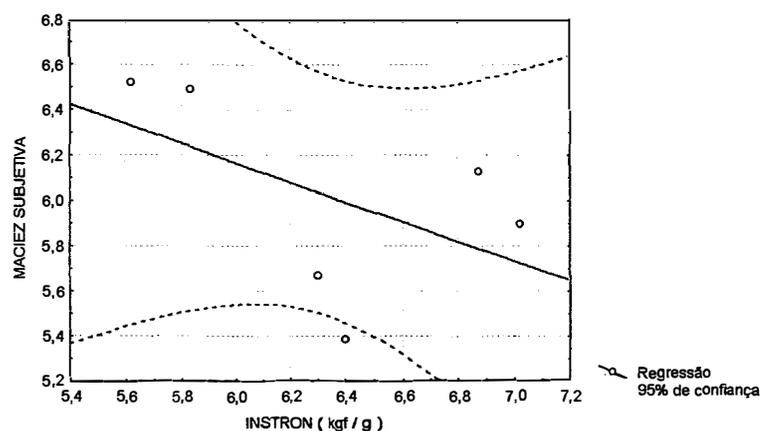


Figura 4. Gráfico de correlação entre as médias de força de cisalhamento (INSTRON) e maciez subjetiva (painel sensorial); Correlação: $r = -0,5239$ ($p = 0,286$).

Soares (1992), estudando o músculo *Longissimus dorsi thoracicus* de búfalos encontrou uma situação diferente, pois os resultados no aumento de maciez subjetiva foram menores que na força de cisalhamento, sendo que a maciez subjetiva passou de 5,74 para 4,05, o que representa um aumento de 29,5% numa escala não-estruturada de 1 a 9, onde 9 significa “muito dura” e a força de cisalhamento passou de 7,91Kgf/g para 13,90kgf/g, ou seja, aumentou em 76%.

Analisando os valores de pH (Apêndice 2), observa-se que as meias-carcaças estimuladas apresentaram maior queda de pH, nas primeiras 3 horas, do que as meias-carcaças não-estimuladas. Embora a força de cisalhamento não tenha apresentado correlação ($p > 0,05$) com o pH final de 24 horas (Tabela 2), a estimulação elétrica acelerou o processo do *rigor mortis*, e se obteve em menor tempo a conversão do músculo em carne. Assim, como argumentaram Sorinmade *et al.* (1982), a estimulação melhora a textura da carne pela ruptura muscular devido à contração durante a estimulação elétrica, ou pela proteólise precoce devido ao estímulo.

Tabela 2. Matriz de correlação entre os valores de perda de peso por cozimento e por refrigeração, força de cisalhamento e pH de 24 horas. (N=21)

Variável	Perda de peso por cozimento	Perda de peso Por refrigeração	Força de cisalhamento
Perda de peso por cozimento	--	--	--
Perda de peso por resfriamento	0,710***	--	--
Força De cisalhamento	0,539**	0,355	--
pH (24 horas)	-0,025	- 0,012	-0,298

correlações não-marcadas = $p > 0,05$

* = $p < 0,05$

** = $p < 0,01$

*** = $p < 0,001$

N= n° de amostras

Outra observação sobre os resultados da medida da força de cisalhamento das amostras submetidas à estimulação elétrica é que a variabilidade da força de cisalhamento do grupo controle foi refletida parcialmente nos resultados das amostras estimuladas, sendo maior nas amostras tratadas com ácido lático 0,2 M e menor nos outros tratamentos, como mostra a Figura 3. Segundo Plant et al (1997), a textura da carne não varia apenas entre carcaças, mas também, entre músculo e também dentro do próprio músculo. A questão da heterogeneidade da qualidade do produto final é uma importante consideração, pois, a imagem de um produto bem aceito está intimamente ligada a manutenção da qualidade desse produto, que deverá preservar uniformidade de suas características organolépticas.

A maturação de 9 dias apresentou média igual a 7,02 kgf/g, ou seja, maior que a média do grupo controle que foi 6,40 kgf /g. Levando em consideração a grande variabilidade de força de cisalhamento do grupo controle e o pequeno número de amostras, pode-se dizer que o referido tratamento não contribuiu para aumentar a maciez objetiva, mas também não causou efeito benéfico na mesma. Já a análise pelo painel sensorial mostra uma melhora na maciez de 9,5%, quando comparamos com o grupo controle de 5,39 para 5,90 na maturação de 9 dias, sendo mais notável na maturação de 14 dias, com 20,5% de aumento de maciez. O aumento no tempo de maturação também diminuiu a força de cisalhamento de 6,40 Kgf/g (grupo controle) para 5,83 kgf/g.

De acordo com Booren *et al.* (1981), a carne bovina da parte dianteira da carcaça é rica em tecido conectivo. Considerando-se que o pico da força de cisalhamento sofre maior efeito da força das fibras miofibrilares (Seidman *et al.*, 1977), e ainda, conhecendo-se a influência da maturação sobre essas fibras (Koohmaraie, 1994), sugere-se que o aumento do tempo de maturação influencia diretamente o aumento da maciez e diminuição da força de cisalhamento do músculo *Triceps brachii*, independente da variabilidade da textura inicial do grupo controle como mostra a Figura 3.

Quando os resultados da força de cisalhamento da carne estimulada, medidos 24 horas após o abate, são comparados com os da maturação de 14 dias,

encontram-se valores muito próximos, como mostra a Tabela 1. Shorthose (1996) encontrou a mesma semelhança em carne estimulada e carne maturada por 3 semanas.

Os efeitos dos tratamentos com ácidos sobre a força de cisalhamento não foram significativos quando comparados com outros tratamentos ($p > 0,05$). As médias da força de cisalhamento foram 6,87 kgf/g e 6,30 kgf/g, para tratamento com ácido láctico e acético, respectivamente, indicando que não houve efeito na maciez objetiva quando comparada com o grupo controle, com média igual 6,40 kgf/g.

Howat *et al.* (1983) encontraram diferença significativa ($p < 0,01$) para força de cisalhamento e maciez entre carne não-tratada e carne tratada com uma mistura de suco de limão, água, açúcar, óleo e sal. Contudo, os resultados para maciez do presente trabalho mostram que a carne tratada com ácido foi considerada mais macia do que o controle pelo painel sensorial, sendo 5,39 para o controle, 6,13 para o ácido láctico e 5,67 para o ácido acético, enquanto a força de cisalhamento apresentou 6,30 Kgf/g para o tratamento com ácido láctico, ou seja, valores próximos ou ligeiramente maiores que os 6,40 Kgf/g do grupo controle.

Pelo teste de mínima diferença significativa (LSD test), não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos, tanto pela maciez objetiva quanto subjetiva.

A Tabela 2 mostra a matriz de correlação entre a força de cisalhamento e outras análises. Observa-se que a força de cisalhamento teve correlação apenas com a perda de peso por cozimento, ou seja, quanto maior a perda de umidade pela cocção, maior a força de cisalhamento (Figura 5).

Dois outros fatores são importantes na discussão dos resultados da força de cisalhamento e maciez do presente trabalho, o efeito do congelamento e o efeito do cozimento sobre a maciez do músculo estudado. Assim, a escolha do método adequado de cozimento foi decisiva, pois a cocção em saquinhos de filme plástico permite o emprego de calor úmido por um período de 1 hora, sugerindo que o efeito do tecido conectivo sobre a maciez foi minimizado na avaliação sensorial. Contudo, Plant *et al.* (1997), considera que esse método permite uma boa comparação entre músculos, mas, saliente que esse não é um método comumente usado pelo consumidor.

As condições do presente estudo não consideram as mudanças na carne relacionadas ao congelamento, que foi realizado em cabine de N_2 líquido por 2 horas e foi mantida congelada a $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Contudo, alguns trabalhos sugerem que pequenos cristais de gelo possam promover danos na estrutura muscular, ou que, a inativação das calpastatinas pelo congelamento. Neste caso, tais mudanças poderiam aumentar a maciez das amostras congeladas (Koohmaraie, 1992).

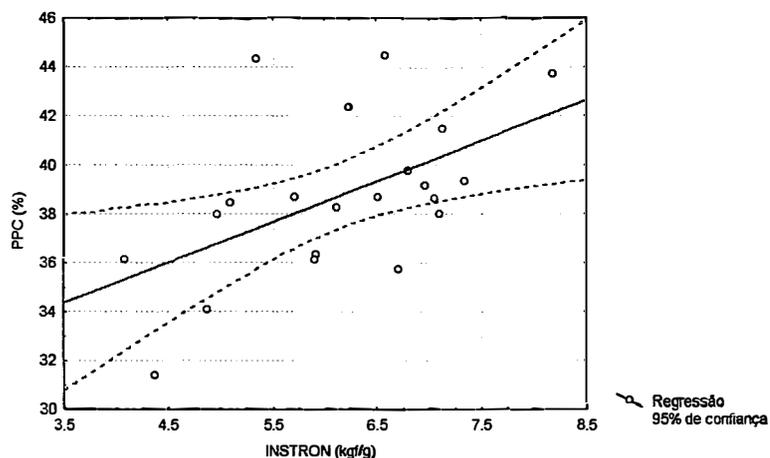


Figura 5. Gráfico de correlação entre valores de força de cisalhamento (INSTRON) e perda por cozimento (PPC), $r = 0,539$ ($p < 0,05$).

4.2.1.2. Perdas de peso por cozimento e devido ao tratamento

Os diagramas de caixas dos valores de perda de peso por cozimento (PPC) e perda de peso por tratamento (PPT) podem ser vistas nas Figuras 6 e 7, respectivamente. Depois de 24 horas de armazenamento refrigerado, a carne tratada com ácido láctico 0,3 M ganhou 0,5% do seu peso, ao contrário da carne tratada com ácido acético 0,1M que perdeu 0,6% do seu peso, Figura 7. Seuss & Martin (1993) encontraram ganho de peso em ambos os tratamentos com ácido láctico e acético, mas no láctico, o ganho foi maior, chegando a aproximadamente 28% em dois dias, enquanto que no acético o ganho foi de 13%.

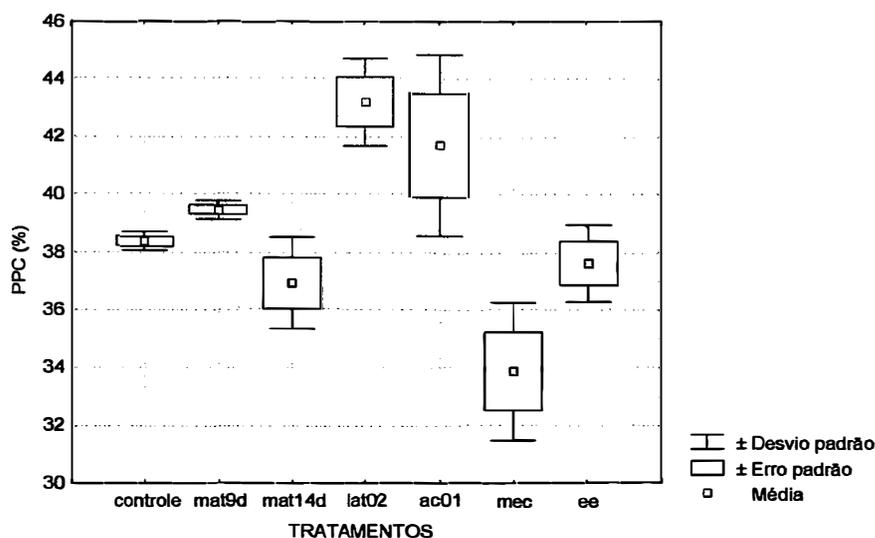


Figura 6. Diagrama de caixas dos valores das perdas por cozimento (PPC) do músculo *Triceps brachii*.

Uma hipótese para explicar a PPT desses tratamentos, pode ser a diferença de pH entre o ácido láctico 0,2M (pH = 2,09) e o ácido acético 0,1M (pH = 2,80) utilizados em nosso trabalho, uma vez que o ácido migra para os tecidos do músculo podendo alterar o pH da carne. Essa hipótese pode explicar as alterações de perda por cozimento e por tratamento, porém no presente estudo não houve monitoramento do pH durante os tratamentos com ácidos. Gault (1985) propôs que com pH próximo de 5,0, ou seja, ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares, a absorção de água é mínima e por isso a força de cisalhamento é maior.

Ainda, discutindo os resultados das perdas de peso por tratamento, pode-se afirmar que o tratamento com ácido láctico 0,2 M apresentou diferença significativa, quando comparado com os outros tratamentos, como pode ser visto no Apêndice 3, devido a ganho de peso, ao contrário dos outros tratamentos que perderam peso.

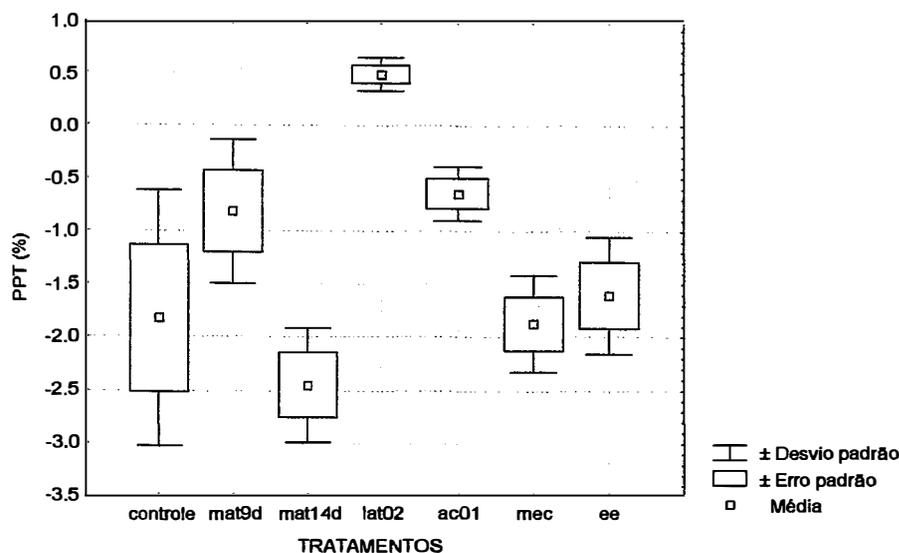


Figura 7. Diagrama de caixas dos valores da perda de peso por tratamento (PPT) do músculo *Triceps brachii*.

Verificando a correlação entre a força de cisalhamento e as perdas de peso por cozimento, foi encontrada uma correlação positiva ($r = 0,539$; $p < 0,05$), ou seja, quanto maior a perda por cozimento, maior é a força de cisalhamento, como se pode observar na Figura 5. Esses resultados são confirmados no trabalho de Trout (1988) que afirmou a mesma correlação.

As amostras tratadas com ácido láctico 0,2 M e ácido acético 0,1 M apresentaram perda de peso por cozimento igual a 43,19 e 41,72 % respectivamente, como pode ser observado na Figura 6. Esses foram os tratamentos que apresentaram maiores médias para tal análise. O tratamento com ácido láctico apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado com todos os outros tratamentos, com exceção do tratamento com ácido acético. O tratamento com ácido acético também apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) com todos os tratamentos, exceto para maturação de 9 dias.

Com relação à tenderização mecânica, houve diferença significativa ($p < 0,05$) nas perdas por cozimento e nas perdas por tratamento quando comparados ao grupo controle, cujos resultados foram respectivamente 33,88% e 1,87% (Apêndices 3 e

4). Esse resultado é corroborado pelos trabalhos de Glover *et al.* (1977), que encontraram aumento de perda por exsudação na armazenagem e por Davis *et al.* (1977) que notificaram um aumento de perda de peso por cozimento, devido à tenderização mecânica. Esses mesmos autores explicam que tal perda pode ser causada pelas fraturas causadas no tecido muscular devido às perfurações de agulhas ou lâminas. Contudo, Seideman *et al.* (1977), que estudaram os músculos *Psoas major* e *Semitendinosus* e Tatum *et al.* (1978), que estudaram os músculos *Biceps femoris*, *Semimembranosus* e *Longissimus*, não encontraram diferença significativa para perdas por cozimento ou por exsudação durante armazenagem refrigerada.

Segundo as Tabelas dos Apêndices 3 e 4, as amostras maturadas apresentaram 39,44% e 36,02% de perda de peso por cozimento para maturação de 9 e 14 dias, respectivamente. Observou-se que tais resultados não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparados com o controle com 38,39% de perda. Assim como Boakye & Mittal (1993a) que encontraram aumento da perda por cozimento a partir do segundo dia de maturação apresentando o máximo valor nos primeiros 8 dias de maturação, passando de 26,5% no primeiro dia após o abate até 28,9% no 16 dia após o abate. A perda de peso durante a estocagem refrigerada chegou a 0,81% em 9 dias e 2,45% em 14 dias, sendo significativamente diferentes ($p < 0,05$) quando comparadas entre si, como pode ser visto na Apêndice 3. Entretanto, não houve diferença significativa entre 9 e 14 dias de maturação ($p > 0,05$) quando comparados com o grupo controle.

Quanto às amostras estimuladas, a perda de peso durante armazenagem refrigerada foi de 1,61% (Apêndice 3), não apresentando diferença estatística ($p > 0,05$) quando comparado com o grupo controle. Payne *et al.* (1997) estudando a perda de peso durante a refrigeração de músculos *Longissimus lumborum*, encontraram valores significativamente ($p < 0,05$) menores de perda de peso por refrigeração nas amostras estimuladas quando comparadas com as não-estimuladas, sendo 2,3% e 2,6% respectivamente. Para perda de peso por cozimento nas amostras estimuladas foi de 37,61% e apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), somente quando comparadas

com a tenderização mecânica, com a carne tratada com ácido láctico 0,2M e com ácido acético 0,1M.

A Figura 8 mostra a correlação positiva ($p < 0,05$) entre perda de peso por cozimento e perda de peso por tratamento, ou seja, quanto maior a perda de peso por estocagem refrigerada, menor é a perda de peso por cozimento.

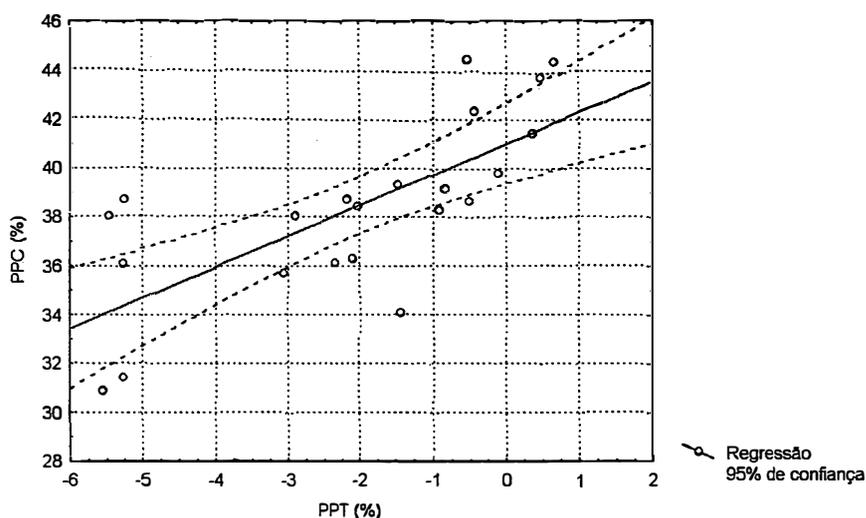


Figura 8. Gráfico da correlação entre os valores de perda de peso por cozimento (PPC) e perda de peso por tratamento (PPT); $r = 0,726$ ($p < 0,05$).

4.2.1.3. Cor instrumental

Os valores médios de $L^*/a^*/b^*$ da carne submetida a maturação são apresentados na Tabela 3, cujos valores são 34,73/15,51/1,01 e 35,62/14,2/0,75 para carne antes da maturação por 9 e 14 dias respectivamente. Depois da maturação por 9 dias, as médias para $L^*/a^*/b^*$ foram 35,17/17,86/5,16. Observa-se um ligeiro aumento de a^* e b^* sugerindo uma intensificação do vermelho e amarelo, porém essa diferença não foi significativa como mostra a Apêndice 5.

Tabela 3. Médias da cor instrumental da carne maturada.

TRATAMENTO	DIA	L*		a*		b*	
		M	EP	M	EP	M	EP
Maturação 9 dias	1 ^o	34,73	0,24	15,51	0,39	1,01	0,48
Maturação 9 dias	9 ^o	35,17	0,62	17,86	0,85	5,16	0,55
Maturação 14 dias	1 ^o	35,62	1,51	14,20	0,94	0,75	0,99
Maturação 14 dias	14 ^o	34,84	1,12	17,65	0,57	5,46	1,11

L*: luminosidade; a*: cor vermelha; b*: cor amarela.

M= média EP= erro-padrão

As médias de L*/a*/b* na carne maturada por 14 dias foram 34,84/17,65/5,46 e da mesma forma que a maturação por 9 dias, não apresentou diferença significativa de cor antes e depois da maturação. Em ambos os tratamentos, as pequenas alterações que ocorreram no valor de L* e a* não foram suficientes para significar uma limitação da maturação do músculo *Triceps brachii*.

4.2.2. Análises Bioquímicas

4.2.2.1. Curva de valor R e Curva de pH

A medida do valor R é a relação entre as concentrações da inosina e adenosina. Como a inosina aumenta e a adenosina diminui durante o desenvolvimento do *rigor mortis*, maiores valores de R indicam estágios mais avançados de *rigor mortis* (Honikel & Fischer, 1977). Na figura 9 (ou nos resultados apresentados no Apêndice 1), é possível observar que nas primeiras 8 horas após o abate, o valor R da carne estimulada alcança o valor 1,0 em aproximadamente 3 horas após a morte do animal, enquanto que a carcaça não-estimulada chega ao mesmo valor de R por volta de 6 horas. Considerando a afirmação de Khan & Frey (1971) de que valor de R igual a 1,0 significa início de *rigor mortis*, concluímos que a estimulação elétrica com voltagem de

PUGA, D.M.U. Avaliação do amaciamento de carne bovina de dianteiro (*Triceps brachii*) pelos métodos de maturação; estimulação elétrica; injeção de ácidos e tenderização mecânica. Piracicaba, 1998. 91p. **Dissertação (Mestrado)** – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

ERRATA & CORRIGENDA (N.1)

	<i>linha</i>	<i>onde lê-se</i>	<i>leia-se</i>
xiii	5'	...11 bovinos fêmeas com idade de 24 meses.....	...11 bovinos fêmeas com idade entre 3 e 4 anos...
8	4'	...anaeróbica são os caminhos da...	...aeróbica são os caminhos da...
17	17'	...Na verdade, considera-se que o estabelecimento...	...Na verdade, considera-se que a resolução...
18	3'	...também chamada de calpaina II...	...também chamada de calpaina I...
26	2'	...e idade de 3 a 4 meses, sendo 5 da raça...	...e idade de 3 a 4 anos, sendo 5 da raça...
35	7'	...pela tenderização mecânica pode superestimar...	...pela tenderização mecânica pode subestimar...
40	14'	...para o tratamento com ácido láctico, ou seja,...	...para o tratamento com ácido acético e 6,87Kgf/g para ácido láctico, ou seja,...
41	4'	...danos na estrutura muscular, ou que, a inativação...	...danos na estrutura muscular ou inativação...
44	1'	...Esse trabalho é corroborado pelos trabalhos de Glover <i>et al</i> (1977)...	...Ao contrário dos trabalhos de Glover <i>et al</i> (1977)...

PUGA, D.M.U. Avaliação do amaciamento de carne bovina de dianteiro (*Triceps brachii*) pelos métodos de maturação; estimulação elétrica, injeção de ácidos e tenderização mecânica. Piracicaba, 1998. 91p. **Dissertação (Mestrado)** – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

ERRATA & CORRIGENDA (N. 2)

<i>p.</i>	<i>linha</i>	<i>onde lê-se</i>	<i>leia-se</i>
45	3'A Figura 8 mostra a correlação positiva...	...A Figura 8 mostra a correlação negativa...
47	14'	...proteolítica. Essa afirmação foi confirmada por.	...proteolítica.
49	6' e 7'	..., respectivamente, de 4,0 UFC/g e <3,0 UFC/g...	..., respectivamente, de 4,0 NMP/g e <3,0 NMP/g...
51	21'	...efeito na maciez subjetiva mas...	...efeito na maciez objetiva mas...
51	22'	...melhora na diminuição da força de cisalhamento...	...melhora na maciez subjetiva...
60	10'	...o que representa 14,5% do valor do grupo controle de 6,2Kgff/g.o que representa 14,5% de melhora na maciez objetiva.
60	14' e 15'	..., representando 8,9% do valor do grupo controle que foi de 6,4Kgff/g.	..., representando 8,9% de melhora na maciez objetiva.
63	Tabela 6	máx.	mínimo
63	Tabela 6	mín.	máximo

250V por 90 segundos acelerou o início da glicólise anaeróbica e do *rigor mortis*, como já foi proposto por Taylor & Cornell (1985).

A curva de pH de 24 horas representada na Figura 10 mostra que o pH nas carcaças estimuladas caiu de 7,17 para 6,17 em 4 horas quando o músculo *Triceps brachii* atingiu 30°C, enquanto nas amostras não-estimuladas a queda foi de 7,12 a 6,69 quando a temperatura do músculo chegou a 29°C. Petäjä *et al.* (1985), encontraram valores ainda menores de pH para carne estimulada e mantidas em temperatura mais altas, entre 37°C e 42°C, chegando a 5,5 em 4 horas após estimulação, contudo, quando o músculo foi mantido a 30°C, atingiu pH igual a 5,7 em 4 horas chegando ao valor de 5,5 em 8 horas. Segundo Takahashi (1992), pode haver variação de temperatura pós-estimulação mas, se a temperatura do músculo for elevada, haverá maior velocidade de transformação de ATP em ADP e conseqüente aceleração da queda do pH. O mesmo autor explica que queda de pH associada à elevada temperatura, acelera atividade proteolítica. Essa afirmação foi confirmada por

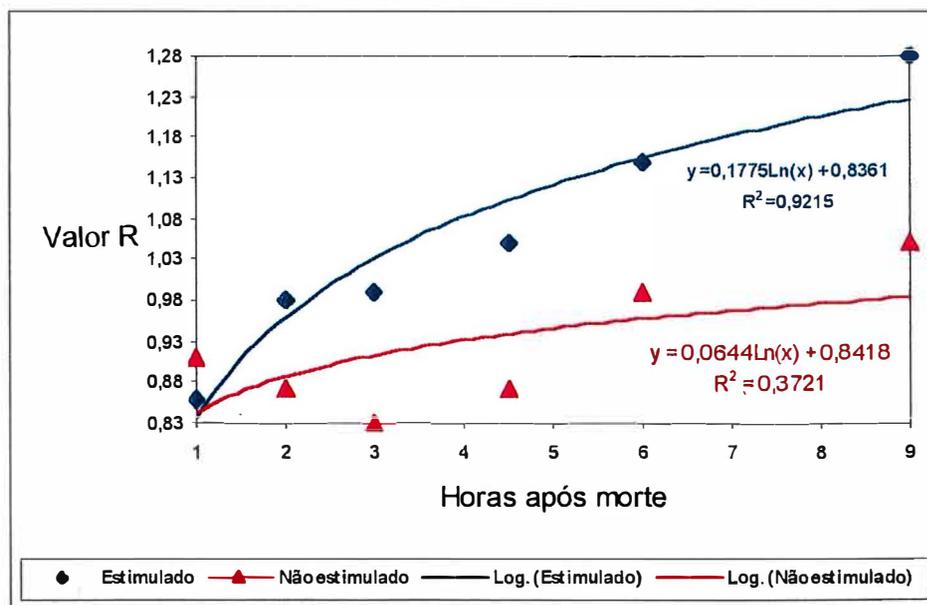


Figura 9. Curva de valor R nas primeiras 9 horas após o abate.

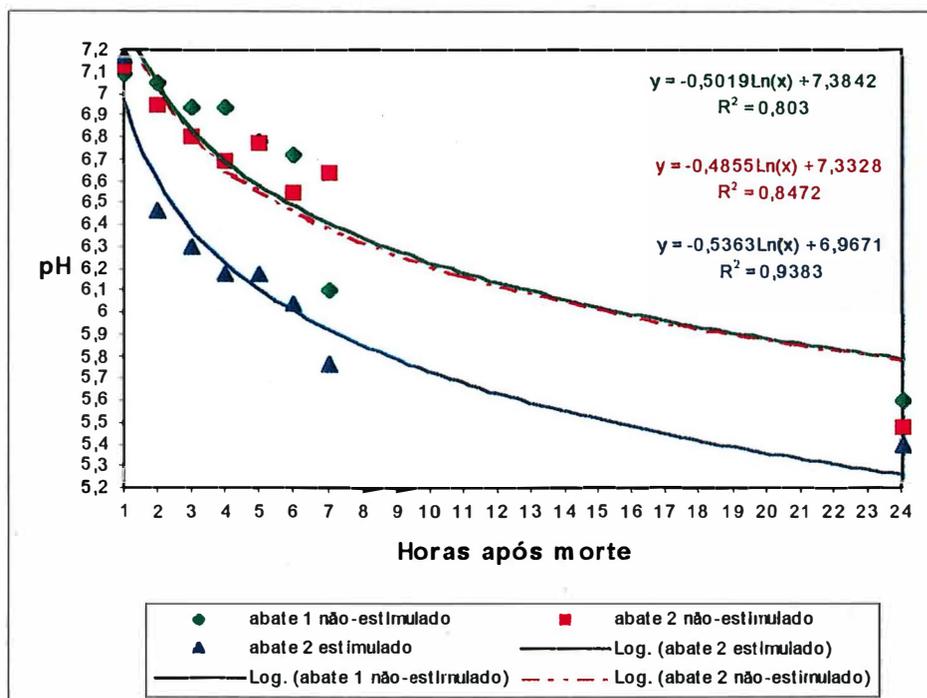


Figura 10. Curva de pH nas primeiras 24 horas *post mortem*.

No presente estudo, 4 e 6 horas após a estimulação, o pH chegou a 6,17 e 6,04 respectivamente (Apêndice 2), provavelmente devido ao uso de voltagens baixas, 250V por 90seg, enquanto que outros autores constataram $\text{pH} < 6,0$ em 4 horas, utilizando voltagens de 3600V por 120seg (Davey & Gilbert, 1976b). Dransfield *et al.* (1992) encontraram pH igual a 6,1 em 6 horas, com 500V por 60 seg.

Para valor de pH 24 horas *post mortem*, a carne estimulada chegou a 5,39 e a não-estimulada a 5,48; esses resultados foram observados em amostras obtidas no mesmo abate 2 e portanto, sob as mesmas condições de abate e refrigeração. Entretanto, quando são comparados o pH de 24 horas das amostras obtidas nos abates 1 e 2, não há diferença discrepante, pois, no abate I, a média de pH foi 5,60, e no abate 2 foi 5,48. O histograma da Figura 11 mostra a frequência de pH de 24 horas das amostras obtidas no abate 1 e 2. Não houve correlação significativa entre os valores de pH de 24 horas e força de cisalhamento ($p > 0,05$), indicando que o pH não influenciou nos valores de força de cisalhamento.

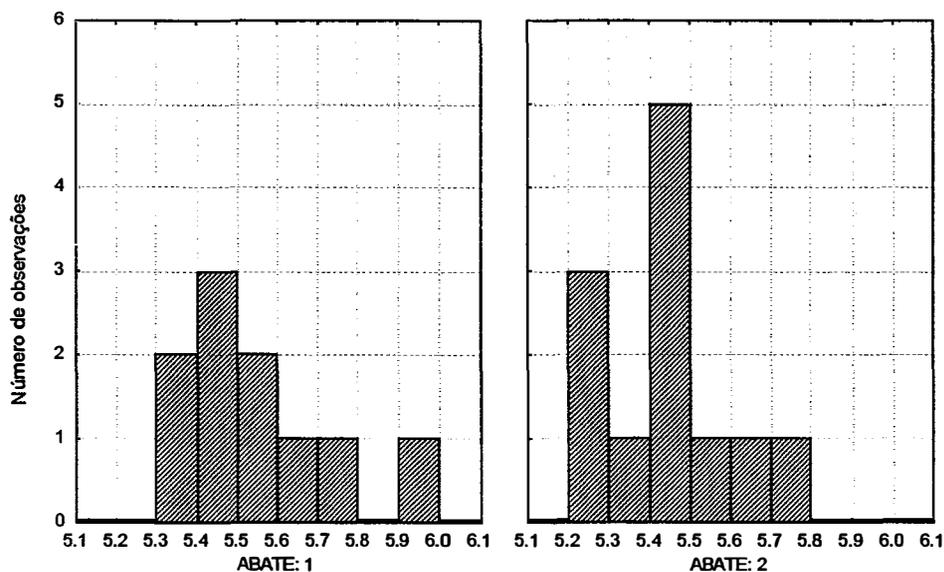


Figura 11. Histograma de freqüências do pH 24 horas “post mortem” dos abates 1 e 2.

4.2.3. Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas na matéria-prima, qual seja o músculo *Triceps brachii* para caracterização microbiológica que são as seguintes: determinação de mesófilos e psicrotóxicos; coliformes totais e fecais e *Staphylococcus aureus*, cujos resultados estão na Tabela 4 e foram comparados com os padrões do Código Sanitário da Secretaria de Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo.

O número de coliformes fecais foi, respectivamente, de 4,0 UFC/g e <3.0 UFC/g para as amostras submetidas à maturação por 9 dias e 14 dias, abaixo dos 3×10^2 NMP/g, estabelecido pela legislação brasileira. O grupo coliforme é considerado o indicador microbiológico de contaminação fecal mais empregado em carnes “in natura” (Leitão, 1988).

Tabela 4. Caracterização microbiológica da carne antes da embalagem (1 dia) a vácuo e depois da maturação de 9 dias e 14 dias.

Dias	Amostras	Coliformes totais	Coliformes fecais	Mesófilos	<i>S. aureus</i>	Bactérias lácticas	Psicro
1.o dia	Maturada 9 dias	9,0	4,0	$3,9 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	$7,0 \times 10^2$
1.o dia	Maturada 14 dias	$< 3,0$	$< 3,0$	$4,7 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$2,3 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$
9.o dia	Maturada 9 dias	--	--	--	--	$1,22 \times 10^4$	$4,63 \times 10^4$
14.o dia	Maturada 14 dias	--	--	--	--	$1,23 \times 10^5$	$6,5 \times 10^5$

A contagem de mesófilos esteve entre $3,9 \times 10^2$ UFC/g e $4,7 \times 10^2$ UFC/g, também abaixo do limite de 3×10^6 UFC/g proposto pela legislação brasileira. Segundo Bomar (1985), a avaliação da contagem total da superfície pode ser classificada em três níveis:

BOM = até 6,7 log UFC/g ou $3,5 \times 10^6$ UFC/g

TOLERÁVEL = de 6,7 a 7,7 log UFC/g ou $3,5 \times 10^6$ a $3,5 \times 10^7$ UFC/g

IMPRÓPRIO = $> 7,7$ log UFC/g ou $3,5 \times 10^7$ UFC/g

Baseado nesta classificação, pode-se indicar que o músculo *Triceps brachii* encontrava-se em condições higiênicas adequadas.

Para a contagem de *S. aureus*, encontrou-se $< 1,0 \times 10^2$ UFC/g, indicando contagem baixa ou nula desse microrganismo.

A contagem de psicrotróficos na carne utilizada para maturação por 9 dias passou de $7,0 \times 10^2$ UFC/g na caracterização microbiológica do 1º dia para $4,63 \times 10^4$ UFC/g depois do tratamento. A contagem na carne utilizada para maturação por 14 dias passou de $3,0 \times 10^2$ UFC/g no 1º dia para $6,5 \times 10^5$ UFC/g depois do tratamento. A legislação brasileira não prevê parâmetros para contagem de psicrotróficos, mas esse resultado também pode seguir a classificação de Bomar (1985) já citada.

Para Greer², citado por Roça & Serrano (1995) a deterioração da carne tem seu início quando as contagens estão na faixa de 10^6 UFC/g, com descoloração da superfície. Entre 10^7 a 10^8 UFC/g, surgem odores estranhos; entre 10^8 e 10^9 UFC/g, acontecem alterações indesejáveis de sabor; e em contagens por volta de 10^9 UFC/g aparece o limo superficial.

As bactérias láticas tiveram contagem de $1,4 \times 10^2$ e $2,3 \times 10^2$ UFC/g na caracterização das carnes usadas para maturação por 9 e 14 dias. Depois da maturação por 9 dias aumentou para $1,22 \times 10^4$ UFC/g e depois da maturação por 14 dias aumentou para $1,23 \times 10^5$ UFC/g. Isto porque a embalagem à vácuo propicia o aumento do número de bactérias láticas a partir do 7º dia de armazenamento refrigerado, diminuindo a contagem de *Pseudomonas* que é um microrganismo aeróbio que produz deterioração do produto (Gill, 1996). Como a contagem de psicotróficos na amostra de carne maturada por 9 e 14 dias não atingiu 10^7 UFC/g e considerando que as bactérias láticas estão dentro dessa contagem, pode-se concluir que a carne está em bom estado de conservação.

4.3. Conclusão

A avaliação objetiva e subjetiva de maciez de 22 músculos *Triceps brachii*, obtidos de 11 bovinos fêmeas com 3 a 4 anos de idade, submetidos aos tratamentos de maturação por 9 e 14 dias, estimulação elétrica, injeção de ácidos acético 0,1M e láctico 0,2M e tenderização mecânica, além do monitoramento das modificações químicas, físicas e microbiológicas, permite as seguintes conclusões:

- a tenderização mecânica causou o maior efeito na maciez subjetiva mas não apresentou a mesma melhora na diminuição da força de cisalhamento, sugerindo que o painel sensorial pode realizar uma avaliação mais abrangente, porque combina os efeitos causados tanto nas fibras musculares quanto no tecido conectivo;

² GREER, G. G. Bacteria and meat quality. *J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.*, Toronto, v.22, n.2, p.116-117, 1989.

- os efeitos na melhoria da qualidade da textura da carne estimulada foram semelhantes ao da carne maturada por 14 dias, e evidenciados da mesma forma pela análise sensorial e força de cisalhamento;
- os tratamentos de maturação por 9 dias, injeção com ácido acético 0,1M e láctico 0,2M, não causaram efeitos no aumento da maciez do músculo *Triceps brachii*;
- as médias de maciez objetiva e subjetiva apresentaram correlação negativa, o que assegura a confiabilidade dos resultados apresentados pelo painel sensorial;
- houve correlação entre perda de peso por cozimento (PPC) e força de cisalhamento, confirmando sua influência na força de cisalhamento das carnes tratadas e cozidas;
- a perda de peso durante o armazenamento refrigerado e pH de 24 horas das amostras não influenciaram a força de cisalhamento da carne tratada;
- a análise microbiológica realizada no músculo *Triceps brachii*, submetido ao tratamento de maturação, comprovou que tal processo não influenciou no aumento da contagem de microrganismos deterioradores;
- monitoramento da cor da carne, através da análise instrumental da cor, permite assegurar que as pequenas alterações durante a maturação e tratamentos com ácido, não influenciam a aceitação do produto final.

5. EXPERIMENTO 2

5.1. Material e Métodos

5.1.1. Amostras

Foram abatidos 25 bovinos machos da raça Nelore com média de peso de carcaça igual a 250Kg (erro padrão = 4,31Kg) e idade de 24 meses, para obtenção de 30 músculos *Triceps brachii* em desossa de 24 horas após o abate, sendo 25 músculos do lado esquerdo e 5 do lado direito. As unidades experimentais foram os músculos *Triceps brachii*, obtidos sob as mesmas condições de abate, refrigeração e desossa. O abate dos animais foi realizado em abatedouro comercial, cujo fluxograma pode ser visto na Figura12. Das 30 unidades experimentais, 6 foram congeladas como grupo controle e as restantes foram agrupadas em grupo de 4 unidades e, submetidas aos seguintes tratamentos: maturação por 14 dias (mat14) e por 21 dias (mat21); injeção de ácido acético 0,1M (ac0,1) e 0,2M (ac0,2); e injeção de ácido láctico 0,2M (al0,2) e 0,3M (al0,3). A atribuição dos tratamentos às unidades experimentais seguiu um delineamento experimental completamente casualizado.

5.1.2 Tratamentos

5.1.2.1. Controle

Idem ao item 4.1.2.1.

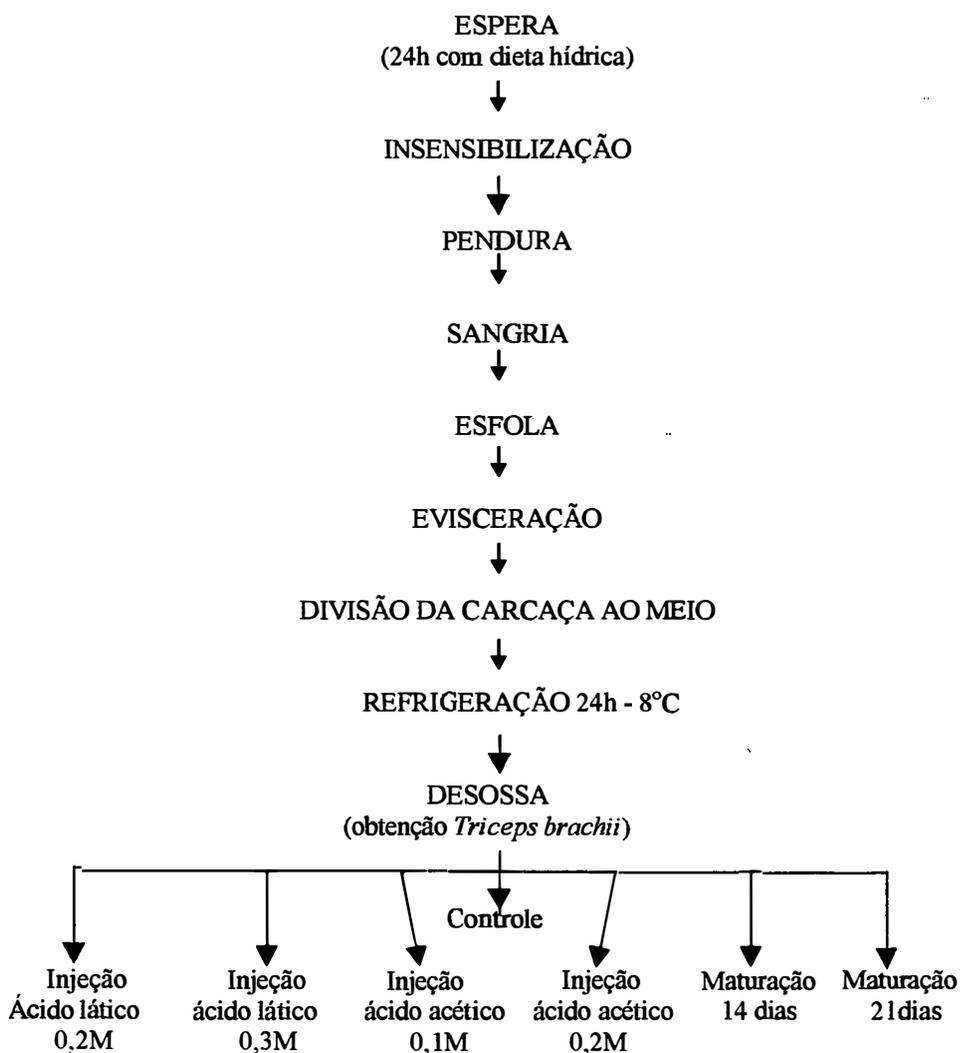


Figura 12. Fluxograma de abate de bovinos e aplicação dos tratamentos do experimento 2.

5.1.2.2 Tratamento com ácidos

A injeção de ácidos foi realizada com seringas manuais, de maneira a distribuir na proporção de 15% do peso da amostra em ácido, por toda a amostra. As concentrações de ácidos utilizadas foram acético 0,1M e 0,2M e láctico 0,2M e 0,3M. Após a injeção as amostras foram submetidas ao “tumbler” por 60 min., numa sequência de 20 min. de trabalho e 20 min. de pausa. Em seguida foram acondicionadas em filme

plástico BB300 Cryovac termoencolhível e mantidas sob refrigeração entre 0°C e 2°C por 72 horas e congeladas conforme a mesma metodologia do grupo controle.

5.1.2.3. Maturação

As amostras de *Triceps brachii* foram embaladas à vácuo (como o controle) e maturadas por 14 dias e 21 dias entre 0°C e 2°C. No final do tratamento por 14 dias, as amostras foram congeladas (como o controle) enquanto se completava a maturação das outras amostras.

Neste tratamento além das amostras serem embaladas à vácuo, as embalagens foram termoencolhidas em banho-maria a 80°C por 2 segundos.

5.1.3. Cozimento

Idem ao item 4.1.3.

5.1.4. Análises físicas

5.1.4.1. Cor

Idem ao item 4.1.4.1.

5.1.4.2. Força de cisalhamento

Idem ao item 4.1.4.2.

5.1.4.3. Perdas de peso por cozimento e por tratamento

Idem ao item 4.1.4.3.

5.1.5. Análises bioquímicas

5.1.5.1. pH

Utilizou-se pHmetro de punção, diretamente nas amostras *Triceps brachii*, procedendo-se a 3 leituras em cada amostra. As leituras foram realizadas a 48 horas após o abate, ou seja, antes da aplicação de cada tratamento e, imediatamente após cada tratamento.

5.1.6. Análise sensorial

Para realizar a avaliação sensorial das carnes submetidas aos tratamentos em estudo, utilizou-se uma escala linear não estruturada de 10 cm ancorada nas extremidades conforme a Figura 13. Cada amostra foi avaliada em relação à maciez, suculência e qualidade global. A equipe sensorial foi composta por 8 provadores treinados para análise da carne maturada e 12 provadores treinados para análise da carne tratada com ácido. A avaliação dos dois tratamentos foi conduzida por equipes diferentes porque as características da carne maturada e carne tratada com ácido eram diferentes em relação ao sabor.

Atributos avaliados:

maciez: percepção da força necessária para, ao morder, obter cisalhamento da amostra (0=dura, 10=extremamente macia);

suculência: percepção de líquidos exsudados pela carne ao ser mordida (0= pouco suculenta, 10 = muito suculenta);

qualidade global: combinação de sensações gustativas de textura, sabor, líquidos exsudados e aroma percebidas na amostra (0=ruim, 10=excelente).

Bem vindo ao Sistema de Avaliação Sensorial Computadorizado do Centro de Tecnologia da Carne.

Você se comunica com o sistema utilizando a caneta óptica.

Para prosseguir pressione a caneta no local indicado

Você irá provar carne de paleta de bovinos

Prove o controle e em seguida prove e avalie as outras amostras

Avalie a maciez, suculência, qualidade global e faça seus comentários

Maciez

Dura	Extremamente Macia
------	--------------------

Suculência

Pouco Suculenta	Muito Suculenta
-----------------	-----------------

Qualidade Global

Ruim	Excelente
------	-----------

Faça comentários:

.....

.....

.....

Sua participação nesse painel foi muito importante. Obrigado.

Figura 13. Ficha de avaliação sensorial do experimento 2.

Para as carnes maturadas, o delineamento experimental utilizado para apresentação das amostras aos provadores, foi o de blocos completos casualizados onde cada provador recebeu 2 amostras de carne maturada e 2 amostra do grupo controle (sendo 1 explicitada para servir de referência e 1 codificada). No caso das amostras tratadas com ácidos, havia 5 tratamentos incluindo o grupo controle, portanto, para se evitar a fadiga dos provadores, utilizou-se um delineamento de blocos incompletos parcialmente balanceados. Cada provador recebeu 2 amostras do grupo controle (sendo

1 explicitada para ser utilizado como referência e outra codificada) e 2 amostras de carne tratada com ácido. Os provadores ainda receberam água e biscoito “água e sal” para enxagüe da boca e para tirar o sabor residual da amostra anterior.

O teste foi conduzido no laboratório de avaliação sensorial do Centro de Tecnologia de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas (CTC – ITAL), em cabines individuais computadorizadas longe de ruídos e odores, utilizando-se o sistema computadorizado desenvolvido pela Compusense, Inc., versão 4.2, específico para avaliação sensorial. Cada provador recebeu 3 pedaços de carne de aproximadamente 3,5cm², previamente reaquecidas em forno de microondas a potência máxima por 40Seg, em potes codificados com 3 dígitos aleatórios.

5.1.7. Análises microbiológicas

Idem ao item 4.1.7.

5.1.8. Análise estatística

Idem ao item 4.1.8.

5.2. Resultados e Discussão

5.2.1. Avaliações físicas e sensoriais

5.2.1.1. Força de cisalhamento

A tabela 5 apresenta as médias da força de cisalhamento e da análise sensorial das amostras de *Triceps brachii* obtidas de bovinos machos com idade entre 24 e 26 meses. É importante justificar que das 30 unidades experimentais de *Triceps brachii*, 5 foram descartadas por apresentar pH 24 horas *post-mortem* maior ou igual a 6,0; sendo portanto consideradas carne “DFD”, como será discutido no item 5.3.2.1.

As amostras submetidas a maturação por 14 e 21 dias tiveram os menores valores para força de cisalhamento, sendo 3,00Kgf/g e 3,43Kgf/g respectivamente (figura 14), enquanto o grupo controle apresentou a média de 5,62Kgf/g. Embora a maturação por 21 dias tenha apresentado uma média maior do que a maturação por 14 dias, não houve diferença estatística entre eles. Tais resultados podem sugerir que ao 14º dia de maturação o músculo *Triceps brachi* atinge o limite para força de cisalhamento para esse método de amaciamento (apêndice 7). Entretanto o pequeno número de unidades experimentais utilizadas por tratamento não permite afirmar conclusivamente essa hipótese. Assim observamos que a maturação por 14 dias apresentou 46,6% do valor da força de cisalhamento do grupo controle. As médias dos resultados da força de cisalhamento da maturação por 14 e 21 dias apresentaram diferença estatística significativa quando comparadas à média de 5,62 Kgf/g do grupo controle.

Tabela 5. Médias e erro-padrões dos resultados da análise sensorial para maciez subjetiva, suculência e qualidade global e da análise objetiva para força de cisalhamento (INSTRON).

Tratamentos	Controle		Ác. Lático 0,2M		Ác. Lático 0,3M		Ác. Acético 0,1M		Ác. Acético 0,2M		Maturação 14 dias		Maturação 21 dias	
	M	EP	M	EP	M	EP	M	EP	M	EP	M	EP	M	EP
Instron ¹	5,62	0,46	4,26	0,46	5,34	0,55	4,67	0,28	5,18	0,32	3,00	0,12	3,43	0,17
Maciez ² subjetiva	5,97	0,29	5,58	0,43	4,98	0,71	7,30	0,50	6,20	0,68	7,82	0,42	7,17	0,42
Suculência ³	6,24	0,25	5,97	0,64	4,75	0,54	6,57	0,35	5,80	0,74	6,26	0,78	6,93	0,48
Qualidade ⁴ global	7,01	0,29	7,05	0,56	5,98	0,44	7,90	0,14	7,02	0,79	7,70	0,48	7,30	0,26

1=Instron = valores expressos em Kgf/g

2=Maciez subjetiva em escala de 0 a 10, onde 0=dura e 10=extremamente macia

3=Suculência em escala de 0 a 10, onde 0=pouco suculenta e 10=muito suculenta

4=Qualidade global em escala de 0 a 10, onde 0=ruim e 10=excelente

M= Média

EP= Erro Padrão

Entretanto o limite de maciez alcançado pela maturação pode variar, de acordo com Khan (1977), devido a vários fatores como sexo, idade, alimentação, espécie, raça, estado fisiológico do animal no momento da insensibilização, entre outros.

Embora o objetivo do presente estudo não tenha sido comprovar a influência da idade, sexo e raça sobre a textura da carne. Contudo, observamos que a carne maturada por 14 dias (3,00Kgf/g) apresentou 53,38% do valor da força de cisalhamento do grupo controle (5,62Kgf/g). Diferente dos resultados de Greesink et al. (1995) que estudaram o mesmo músculo em vacas da raça Friesian-Holstein com idade entre 3 e 11 anos e que encontraram na maturação por 7 e 14 dias, 5,3Kgf/g de força de cisalhamento, o que representa 14,5% do valor do grupo controle de 6,2 Kgf/g. Também é possível observar grandes diferenças de resultados quando se observa a primeira etapa (Experimento 1) desse trabalho, quando foi utilizada como matéria prima a carne de vacas com idade entre 3 e 4 anos, cujos resultados para força de cisalhamento da carne maturada por 14 dias foi de 5,83Kgf/g, representando 8,9% do valor do grupo controle que foi de 6,4Kgf/g.

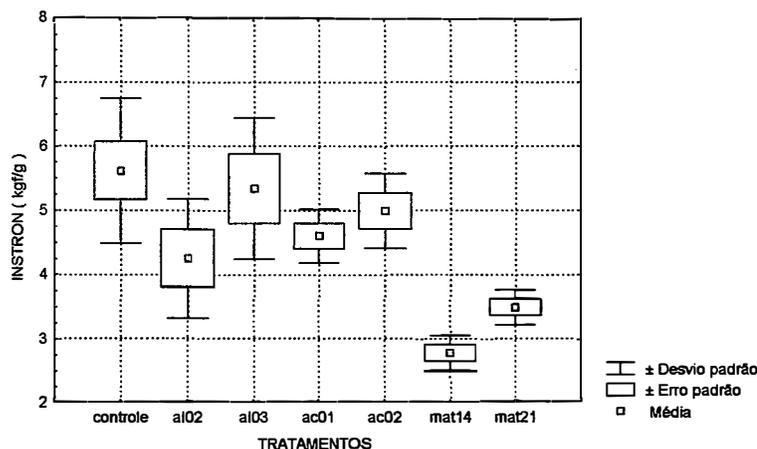


Figura 14. Diagrama de caixas dos valores de força de cisalhamento (INSTRON) das amostras submetidas ao tratamento para amaciamento.

Diante desses resultados pode-se fazer algumas considerações. No experimento 1, as vacas foram abatidas em planta de abate no próprio instituto de pesquisa, enquanto que no experimento 2, o abate dos bovinos machos deu-se em abatedouro comercial com menores chances de causar “stress” no animal antes do abate. Contudo o temperamento de touros jovens, como aqueles abatidos no experimento 2, favorece o acometimento do *stress ante-mortem*, pois o simples contato entre eles, desde o transporte até ao abate, estimula o instinto natural de hierarquia que os instigam uns contra os outros. O comportamento desses animais pode levar a um comprometimento das reservas de glicogênio no músculo, favorecendo o estabelecimento do *rigor mortis* antes do início do resfriamento com prejuízos à maciez da carne obtida desses animais.

Quanto a influência do sexo e da idade dos animais sobre a textura da carne obtidas a partir deles, Hill em 1966 já considera que a diminuição da porcentagem do colágeno intramuscular solúvel pelo aquecimento era proporcional ao avanço da idade do animal. Huff & Parrish (1993), concluíram que a idade do animal e o tempo de maturação tem maior influência sobre a maciez do que o sexo do animal. Embora as diferenças entre os animais e as condições de abate não permitam comparar os resultados apresentados no parágrafo anterior, podemos considerar sem dúvida que ao minimizarmos os principais fatores que favorecem o endurecimento da carne como idade avançada e o “stress” antes do abate, os benefícios da maturação sobre a maciez da carne do músculo *Triceps brachii* serão tão significativos, quanto já foi comprovado em músculos considerados nobres do traseiro bovino (Boakye & Mittal, 1993b e Huff & Parrish, 1993).

Em relação aos tratamentos com ácidos, a média para força de cisalhamento dos músculos tratados com ácido láctico 0,2M foi de 4,26Kgf/g, enquanto a média do tratamento com ácido acético 0,1M foi de 4,67Kgf/g. As médias de 5,18Kgf/g e 5,34Kgf/g da carne tratada com ácido acético 0,2M e láctico 0,3M, respectivamente, de todos os tratamentos com ácido, somente o tratamento com ácido láctico 0,2M apresentou diferença significativa ($p>0,05$) quando comparado à média do grupo controle de 5,62Kgf/g (apêndice 7). Contudo, Rao & Gault (1990), descreveram em seu levantamento bibliográfico várias referências que comprovam a seguinte afirmação,

quanto mais próximo do ponto isoelétrico da maioria das proteínas musculares, ou seja entre pH 5,0 e 5,5, menor é a capacidade de retenção de água e conseqüentemente a carne torna-se mais dura. Assim consideramos que no presente estudo, os valores de pH da carne tratada com ácidos próximos ao ponto isoelétrico das proteínas, pode ser a explicação para a pequena diminuição da força de cisalhamento da carne tratada com ácidos, cujos intervalos de valores de pH após os tratamentos foram os seguintes: no tratamento com ácido láctico 0,2M o intervalo de pH esteve entre 5,34 e 5,47; enquanto que a carne submetida ao ácido acético 0,1M, entre 5,46 e 5,70. Para os tratamentos com ácidos láctico 0,3M e acético 0,2M os intervalos foram respectivamente 5,24 a 5,50 e 5,39 a 5,79. Como explica Oreskovich *et al.* (1992), que a carne com pH igual a 5,38, apresenta a estrutura do sarcômero, dos filamentos finos e grossos e as estruturas das linhas Z e M, praticamente intactos com pequenas fragmentações, bem como a estrutura das fibras de colágeno apresentam-se quase inalteradas. Contudo Rao *et al.* (1989) explicam que em valores de pH mais baixos influenciando no aumento da capacidade de retenção de água da carne marinada em ácido, as mudanças que ocorrem na organização estrutural das proteínas miofibrilares é o principal fator para o aumento de maciez da carne.

Para Davey & Gilbert (1976b), o benefício do tratamento com ácidos à maciez é evidente em cortes de menor valor comercial mas seu efeito é mínimo em cortes nobres.

No presente estudo, não houve correlação significativa entre o pH de 24 horas e a força de cisalhamento ($p > 0,05$).

Tabela 6. Valores máximos e mínimos de pH das amostras antes e depois de cada tratamento.

Tratamentos	Nº de Amostras	Antes do tratamento		Depois do tratamento	
		Máx.	Mín.	Máx.	Mín.
Controle	6	5,51	5,83	5,56	5,98
Äc. láctico 0,2M	4	5,42	5,67	5,34	5,47
Äc. láctico 0,3M	4	5,43	5,76	5,24	5,50
Äc. acético 0,1M	3	5,56	5,82	5,46	5,70
Äc. acético 0,2M	3	5,59	5,72	5,39	5,79
Maturação 14 dias	2	5,57	5,88	5,74	5,76
Maturação 21 dias	3	5,50	5,66	5,59	5,70

5.2.1.2. Análise sensorial

Na tabela 5 estão apresentadas as médias da análise sensorial pelo painel de provadores treinados. Os provadores treinados consideraram a carne maturada por 14 e 21 dias como sendo as mais macias, com médias 7,82 e 7,17 respectivamente. Seguidas da carne tratada com ácido acético 0,1M, com média 7,30. Enquanto a média do grupo controle 5,97. Os resultados dos outros tratamentos foram 7,30 para ácido acético 0,1M, 6,20 para ácido acético 0,2M, 5,58 para ácido láctico 0,2M e 4,98 para ácido láctico 0,3M. Da mesma forma, Seuss & Martin (1993) encontraram pequeno benefício na maciez quando estudaram o efeito da marinação com ácido acético e láctico de carne de búfalos jovens.

A análise de variância das médias dos resultados da análise sensorial, mostrou que apenas houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para maciez subjetiva, enquanto para os outros parâmetros, ou seja, suculência e qualidade global não houve diferença significativa ($p > 0,10$). Esses resultados são considerados como satisfatórios porque evidenciam a diminuição da textura das carnes tratadas, sem

prejuízo de outras características importantes para a qualidade do produto, como a suculência.

Observamos que a maciez subjetiva da carne maturada por 14 dias apresentou uma melhora de maciez igual a 31,0% contra os 46,6% da maciez objetiva. Para a carne tratada com ácido láctico 0,2M os índices foram 24,2% para a força de cisalhamento enquanto para a maciez subjetiva não houve melhora. Uma possível explicação para o valor de maciez subjetiva do tratamento com ácido láctico 0,2M próximo ao do grupo controle foi a grande variabilidade das amostras testadas. Wenham & Locker (1976) encontraram uma situação inversa quando estudaram os efeitos da marinação com ácido acético a 1,5% por 43 horas, no músculo *Sternomandibularis*, pois, obtiveram através do painel sensorial um benefício maior da maciez, sendo 82% na facilidade de cortar a carne, enquanto a força de cisalhamento medido pelo tenderômetro MIRINZ^R, apresentou 31,42% de aumento de maciez.

Os resultados das análises sensoriais para qualidade global, apontam a maturação por 14 dias e o tratamento com ácido acético 0,1M como sendo os tratamentos de melhor aceitação entre os provadores treinados. Entretanto, convém salientar que não houve diferença estatística para os resultados de qualidade global ($p > 0,05$).

5.2.1.3. Perda de peso por cozimento (PPC) e perda de peso por tratamento (PPT)

A maior perda de peso por cozimento (PPC) foi observada na carne tratada com ácido acético 0,2M com média de 50,08% e a menor média no tratamento com ácido acético 0,1M, ou seja, igual a 33,87% (Tabela 7). A PPC dos tratamentos tiveram as seguintes médias: 48,80%; 48,41%; 43,93% e 38,25% sendo respectivamente carne tratada com ácido láctico 0,2M; ácido láctico 0,3M; maturada por 14 dias e maturada por 21 dias. O grupo controle teve média igual a 40,44%. É possível observar valores diferentes em outros trabalhos: Bruce & Ball (1990), encontraram valores entre 38,80 e 39,80% para PPC num estudo sobre o efeito da temperatura, extensão e estimulação elétrica na qualidade da carne. Enquanto, Boakye & Mittal (1993a) observaram valores

crecentes de 26,50 a 28,90% para PPC a medida que aumenta o tempo de maturação de 0 a 16 dias.

Não houve correlação significativa ($r=-0,352$ $p>0,05$) entre PPC e pH depois do tratamento com ácido, embora a Figura 15 sugira que a medida em que o pH diminuiu depois do tratamento com ácido, seus valores aproximaram-se do ponto isoelétrico das proteínas e a PPC aumenta, assim como considerou Hamm³, citado por Seuss & Martin (1993), que uma pequena hidratação das proteínas miofibrilares em pH do ponto isoelétrico é responsável pela grande perda de umidade durante a cocção, concordando com Seuss & Martin (1993) que a PPC é menor em altas concentrações de ácido. No caso das carnes maturadas o pequeno índice de correlação entre a PPC e o pH ao final da maturação, mostra que a PPC esteve num intervalo entre 39,07% e 47,00%. Assim como mostra a Figura 16 que os valores de PPC variam em torno de um valor médio de 40,8 independente do valor de valor pH depois da maturação.

³ HAMM, R. Biochemistry of meat hydratation. *Adv. Food Research*, v.10, 355,1960

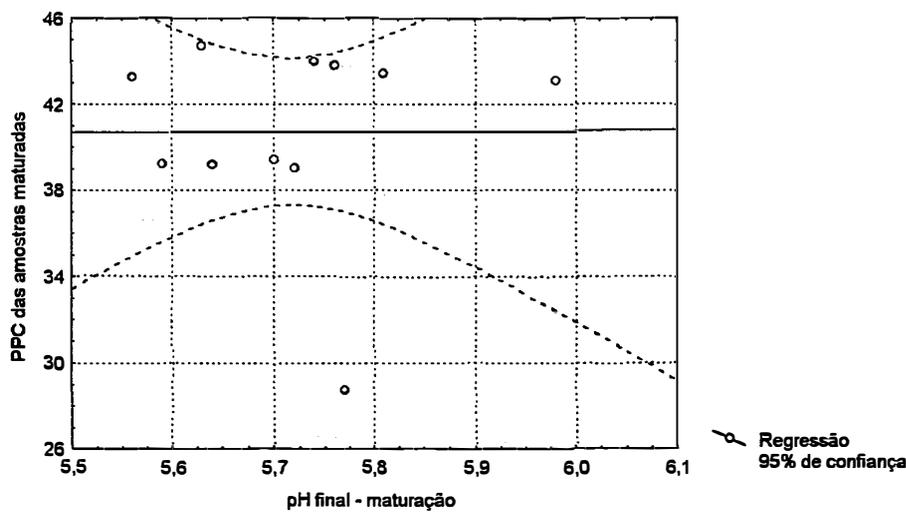


Figura 16. Gráfico de correlação entre os valores de PPC e pH depois da maturação ($r= 0,0072$; $p= 0,983$).

Segundo o histograma do apêndice 6, é possível observar a homogeneidade dos resultados de PPC de todos os tratamentos com exceção do grupo controle.

Para perda de peso devido ao tratamento (PPT) observamos que as amostras maturadas perderam peso por exsudação durante o período de refrigeração, enquanto a carne tratada com ácido ganhou peso devido a injeção de ácido, como pode ser visto na tabela 7.

A maturação por 14 dias apresentou 4,85% de perda de peso durante a armazenagem e a maturação por 21 dias teve 2,30% de perda. De acordo com Passos (1992), a perda de peso durante a estocagem tem grande importância na indústria da carne, pois, se fugirem ao controle podem levar às perdas econômicas volumosas. Seidman & Durland⁴, citados por Passos (1992), consideram aceitável uma perda de peso entre 2% a 4%.

⁴ SEIDMAN, S. C. & DURLAND, P. R. Vacuum packaging of fresh beef: a review. *J. Food Qual.* V.6, p.29-47, 1983.

Tabela 7. Médias e erros-padrões de perdas por tratamento e por cozimento

Tratamentos	Perda de peso durante estocagem refrigerada (PPT) *		Perda por cozimento (PPC)		Total de perdas
	M	EP	M	EP	
Controle	-3,35	0,59	40,43	2,45	43,78
Ác. láctico 0,2M	+1,02	0,77	48,80	0,47	47,78
Ác. láctico 0,3M	+4,56	0,93	48,41	0,57	43,85
Ác. acético 0,1M	+2,82	1,61	33,87	0,18	31,05
Ác. acético 0,2M	+3,54	0,00	50,08	0,07	46,54
Maturação 14 dias	-4,85	0,55	43,93	0,07	48,78
Maturação 21 dias	-2,30	0,11	39,25	0,11	41,55

*Sinal negativo = perda de peso; Sinal positivo = ganho de peso

M= média EP= erro-padrão

As amostras tratadas com ácido tiveram as seguintes médias para ganho de peso depois da injeção de ácidos seguida de armazenamento refrigerado: 4,56%; 2,82%; 3,54% e 1,02%, sendo respectivamente carne tratada com ácido láctico 0,3M; acético 0,1M; acético 0,2M e láctico 0,2M, as quais apresentaram pH entre 5,24 e 5,79 depois dos tratamentos com ácidos. Oreskovich et al. (1992) também relataram pequenas variações de ganho de peso depois da marinação cujas amostras apresentaram pH entre 4,25 e 5,50, porém, para pH maiores, em torno de 10,35 ou menores, em torno de 3,25, o ganho de peso chegou a 72%. Assim também, Penny *et al.* (1963) encontraram que as miofibrilas entumecem e aumentam de diâmetro quando o pH muda de 5,6 para 6,7. Mas Gault (1985) reportou mínima mudança de diâmetro das fibras quando o pH muda de 5,33 para 4,50.

O teste de mínima diferença significativa para PPT (apêndice 9) apresentou diferença para todos os tratamentos com ácidos quando comparados com o grupo controle, enquanto para a maturação não houve diferença. Os maiores valores de

erro padrão foram para o tratamento com ácido acético 0,1M e ácido láctico 0,3M (1,61 e 0,93 respectivamente).

5.2.1.4. Cor Instrumental

A carne maturada apresentou uma ligeira intensificação da cor vermelha (a^*), provavelmente devido ao desenvolvimento da cor vermelho-púrpura (mioglobina reduzida), por causa da falta de oxigênio ao redor do produto embalado à vácuo (Sarantópoulos et al., 1996). Os valores iniciais médios de $L^*/a^*/b^*$ iguais a 36,61/15,96/3,33 e 34,32/14,89/2,49 para o tratamento de maturação por 14 e 21 dias, respectivamente. Os valores finais médios para os mesmos tratamentos foram 37,66/17,71/4,69 e 34,17/16,63/3,18, como podem ser observados na tabela 8.

As amostras tratadas com ácidos apresentaram maior intensificação da cor amarela (b^*) e pouca alteração da cor vermelha (a^*), provavelmente devido a descoloração causada pela ação do ácido na cor da superfície da carne. As médias de valores iniciais de $L^*/a^*/b^*$ para os tratamentos com ácido láctico 0,2M e 0,3M foram 37,24/14,67/2,49 e 34,79/15,97/1,92 e os valores médios finais foram 40,93/16,25/5,80 e 38,73/15,99/4,70. Os tratamentos com ácido acético 0,1M e 0,2M sofreram menor alteração da cor amarela do que os tratamentos com ácido láctico, sendo os valores médios iniciais de $L^*/a^*/b^*$ iguais a 35,41/15,48/2,22 e 35,07/15,41/1,92 e valores finais iguais a 37,85/16,47/5,11 e 40,23/15,11/3,54.

Tabela 8. Médias e erros-padrões de cor instrumental antes e depois dos tratamentos

Tratamento	Cor antes dos tratamentos						Cor depois dos tratamentos					
	L*		a*		b*		L*		a*		b*	
	M	EP	M	EP	M	EP	M	EP	M	EP	M	EP
Controle	35,79	0,38	15,07	0,49	1,92	0,50	34,54	0,72	15,58	0,41	1,94	0,38
Ac. láctico 0,2M	37,24	0,61	14,67	0,17	2,49	0,64	40,93	0,55	16,25	0,70	5,80	0,78
Ac. láctico 0,3M	34,79	0,26	15,97	0,35	1,92	0,32	38,73	0,49	15,99	0,41	4,70	0,22
Ac. acético 0,1M	34,41	0,41	15,48	0,48	2,22	0,34	37,85	1,08	16,47	0,05	5,11	0,64
Ac. acético 0,2M	35,07	0,71	15,41	0,57	1,92	0,66	40,23	0,76	15,10	0,36	3,54	0,49
Maturação 14 dias	36,61	0,23	15,95	0,17	3,33	0,18	37,66	0,28	17,71	0,19	4,69	1,28
Maturação 21 dias	34,32	0,67	14,88	0,80	2,49	0,65	34,17	1,23	16,63	0,16	3,18	0,56

L*= luminosidade; a*= vermelho; b*= amarelo

M= Média

EP= Erro Padrão

O grupo controle praticamente não apresentou alteração de valores iniciais e finais, ou seja, após congelamento em embalagem à vácuo, descartando a possibilidade de influência do congelamento na cor da carne maturada por 14 dias que permaneceu congelada por 7 dias, enquanto se completava a maturação por 21 dias.

As pequenas alterações na cor instrumental das carnes, decorrentes dos tratamentos a que foram submetidas, não significaram a limitação da sua aceitação.

5.2.2. Análises Bioquímicas

5.2.2.1. pH

Os resultados do pH de 24 horas e o pH após o emprego dos tratamentos, Tabela 6, permite-nos estudar a relação das mudanças de pH e a maciez da carne processada; ainda é possível avaliar o desenvolvimento do *rigor mortis*.

É importante observar que no presente estudo os animais foram transportados, manejados e abatidos em condições preventivas do *stress ante-mortem*, exceto nos currais onde os animais permaneceram descansando por 24 horas antes do

abate. Contudo, a suscetibilidade ao *stress* de animais macho inteiros com idade de 24 meses, ou seja, touros jovens, pode produzir carne com pH maior que 6,0. Como explicam Lister *et al.* (1981), quanto maior a quantidade de glicogênio no músculo no momento da morte, menor será o valor do pH final. A ocorrência da carne com pH maior que 6,0 é conhecida como a anomalia da carne de corte escuro ou “dark-cutting beef”, também chamada de DFD que significa dark = escura, firm = firme e dried = seca (Felício, 1997). O simples contato no transporte e nos currais de matança, provavelmente foi a causa da incidência de 5 animais com valores de pH maiores ou iguais a 6,0. Essas amostras foram descartadas das análises de qualidade da carne para se evitar conclusões imprecisas e porque têm maior suscetibilidade ao desenvolvimento de microrganismos patogênicos.

Todas as amostras submetidas à maturação estiveram com o valor de pH dentro do índices esperados, ou seja, entre 5,50 e 5,88 antes da maturação e valores finais entre 5,59 e 5,76. Yu & Lee (1986), postularam que a carne com pH maior que 6,3 é mais macia do que pH menor que 5,8. Para Harrel *et al.* (1978), a carne com pH alto (6,38) é mais macia do que pH menor (5,05). Purchas (1990) estudando o efeito do pH final sobre a força de cisalhamento do músculo *longissimus dorsi* de bois e vacas, concluiu que um máximo valor de força de cisalhamento é encontrado em carnes com pH entre 6,0 e 6,2, e que a maciez da carne diminui se o pH aumentar acima de 6,2. Marsh *et al* (1987) considera que valores de pH menores do que 6,1 nas primeiras 3 horas de *post-mortem*, resultam em carne mais dura, isto porque, o período para ação das proteinases cálcio-dependente (cujo pH ótimo está em torno de 7,0) é menor.

O pH é um importante critério para avaliar as mudanças de textura pela marinação (Seuss & Martin, 1993). A variação de pH das amostras antes dos tratamentos com ácidos esteve entre 5,42 e 5,82; e das 14 amostras estudadas 2 tiveram pH maior que 6,0 e por isso foram descartadas. Para Purchas (1990), a maior influência do pH em carnes cozidas, ocorre devido a mudanças na capacidade de retenção de água (CRA), isto significa que, o aumento da CRA leva a uma menor perda de umidade durante a cocção. Assim, haverá maior quantidade de água e menor quantidade de componentes estruturais na área de secção da amostra de carne, e por isso a carne será mais macia.

Contudo, no presente estudo todas as amostras tratadas com ácidos tiveram seus pH, depois do tratamento, próximos ao ponto isoelétrico das proteínas (pH entre 5,0 e 5,5) como mostra a tabela 6, ou seja, quando a absorção de água é mínima e a força de cisalhamento é maior. Essa pode ser a explicação para a pequena diminuição da força de cisalhamento da carne tratada com ácidos.

Oreskovich *et al.* (1992) estudando o efeito do pH da marinação sobre a textura da carne encontraram uma máxima maciez em pH igual a 3,3, o resultado desse estudo indicou que alterando o pH em 2 unidades ocorrem significativas mudanças de textura e capacidade de retenção de água da carne.

Todas as amostras tratadas com ácidos, no presente estudo, tiveram seus valores de pH diminuídos devido a migração do ácido para dentro da carne, embora a maior variação de pH tenha sido 0,27 unidades exatamente no tratamento com ácido acético 0,2M.

5.2.3. Análises Microbiológicas

O objetivo da caracterização microbiológica neste estudo foi monitorar a qualidade da matéria-prima, bem como avaliar as condições microbiológicas do produto final depois de aplicadas as técnicas para o amaciamento do músculo *Triceps brachii*.

Em nosso país, a legislação vigente (Código Sanitário do Estado de São Paulo) prevê padrões microbiológicos que assegurem a qualidade da carne adquirida pelo consumidor. De acordo com a Tabela 9, observamos que o número de coliformes fecais da matéria-prima em estudo esteve abaixo do padrão estabelecido pela legislação brasileira que é de $<3 \times 10^2$ NMP/g, assim, a carne submetida a maturação por 14 e 21 dias, tiveram contagens de $1,26 \times 10^2$ NMP/g e $1,80 \times 10^2$ NMP/g, respectivamente. Contudo, depois da maturação por 21 dias a carne apresentou valor ligeiramente superior ao permitido, chegando a $5,60 \times 10^2$ NMP/g. A carne maturada por 14 dias atingiu o número de $1,31 \times 10^2$ NMP/g, ou seja, abaixo dos padrões exigidos.

A análise de microrganismos psicrotróficos da carne passou de $1,75 \times 10^4$ UFC/g antes da maturação por 14 dias, para $6,50 \times 10^7$ UFC/g depois do tratamento e na maturação por 21 dias passou de $1,53 \times 10^4$ UFC/g para $9,65 \times 10^7$ UFC/g. A legislação brasileira não prevê padrão para a contagem de psicrotróficos mas, segundo Bomar (1985), um número superior a $3,5 \times 10^7$ UFC/g é considerado impróprio, e de acordo com Greer⁵, citado por Roça & Serrano (1995), nas contagens entre 10^7 e 10^8 UFC/g surgem odores estranhos. Todavia, não foram observadas alterações nas características olfativas da carne, contudo durante a análise sensorial, alguns dos provadores relataram sabor de carne velha.

Tabela 9. Caracterização microbiológica da carne antes e depois de submetidas à maturação por 14 e 21 dias

Momento da coleta de amostras	Amostras	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes Fecais (NMP/g)	Psicrotó-ficos (UFC/g)	Salmonella (em 25 g)	Pseudo-monas (UFC/g)	Bactérias Lácticas (UFC/g)
Início do tratamento	Maturação por 14 dias	$1,26 \times 10^2$	$4,90 \times 10$	$1,75 \times 10^4$	ausente	$5,5 \times 10^3$	Não realizado
	Maturação por 21 dias	$1,80 \times 10^2$	$8,40 \times 10$	$1,53 \times 10^4$	ausente	$1,3 \times 10^3$	Não realizado
Final do tratamento	Maturação por 14 dias	$>2,4 \times 10^3$	$1,31 \times 10^2$	$6,50 \times 10^7$	ausente	$7,6 \times 10^4$	$7,4 \times 10^6$
	Maturação por 21 dias	$>2,4 \times 10^2$	$5,60 \times 10^2$	$9,65 \times 10^7$	ausente	$1,7 \times 10^8$	$1,6 \times 10^7$

⁵ GREER, G. G. Bacteria and meat quality. *J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.*, Toronto, v.22, n.2, p.116-117, 1989.

A contagem de *Salmonella* em 25g do produto, esteve ausente cumprindo especificações da legislação.

A contagem de *Pseudomonas* passou de $5,5 \times 10^3$ UFC/g no início da maturação por 14 dias, para $7,6 \times 10^4$ UFC/g. Entretanto, na maturação por 21 dias a contagem inicial de $1,3 \times 10^3$ UFC/g chegou a $1,7 \times 10^8$ UFC/g ao final do 21º dia, provavelmente devido a perda de vácuo durante a armazenagem refrigerada por problemas na selagem das embalagens que foram submetidas à maturação por 21 dias. Segundo Gill (1996), a carne com número de bactérias deterioradoras próximo a 10^8 UFC/cm² apresenta subprodutos acumulados por esses microrganismos que podem ser detectados organolepticamente, como o odor pútrido. Mesmo assim, no final da maturação por 21 dias, não foi observada tal anormalidade. Ao contrário de Sutherland *et al.*⁶, citados por Newsome *et al.* (1984), que observaram um número maior que 10^6 /cm² de *Pseudomonas* em carne embalada à vácuo por 9 semanas, e cujo odor apresentou-se pútrido com formação de limo. Contudo, Gill (1996) ainda considera que para chegar ao número de 10^8 UFC/g, as *Pseudomonas* podem ter se desenvolvido apenas às custas da glicose, abundante na carne, e por isso ainda não apresenta os subprodutos detectáveis organolepticamente, como acontece quando os aminoácidos são utilizados como substrato de desenvolvimento para esses microrganismos. Mas nesse caso o início do fenômeno da deterioração é abrupto e inevitável.

A contagem de bactérias lácticas foi realizada para verificar a mudança da “microbiota” de *Pseudomonas* por bactérias lácticas. Dessa forma, observamos que no caso da maturação por 14 dias, o número de bactérias lácticas chegou a $7,4 \times 10^6$ UFC/g, sendo maior que o número de *Pseudomonas*, confirmando o bom êxito da embalagem à vácuo. Porém, ao final da maturação por 21 dias, o seu número chegou a $1,6 \times 10^7$ UFC/g, ou seja, abaixo do número de *Pseudomonas*, sugerindo falhas no processo de embalagem com perda de vácuo.

⁶SUTHERLAND, J. P.; PATTERSON, J. P.; GIBBS, P.A.; MURRAY, J.G. Some metabolic and biochemical characteristics of representative microbial isolates from vacuum-packaged beef. *J. Appl. Bacteriol.* 39:239-249, 1975.

5.3. Conclusão

De acordo com o estudo dos efeitos da maturação por 14 dias e por 21 dias; injeção de ácido acético 0,1M e 0,2M; e injeção de ácido láctico 0,2M e 0,3M, sobre a maciez do músculo *Triceps brachii* de bovinos machos de 24 meses de idade, conclui-se que:

- os tratamentos de maturação por 14 e 21 dias apresentaram os melhores efeitos na qualidade da textura da carne, com diferença estatística significativa ($p < 0,05$);
- de todos os tratamentos com ácidos apenas a injeção com ácido láctico 0,2M apresentou diminuição, estatisticamente diferente ($p < 0,05$), da força de cisalhamento, contudo, a análise subjetiva da maciez não evidencia o mesmo efeito;
- não houve correlação significativa entre perda de peso por cozimento (PPC) e força de cisalhamento;
- todos os tratamentos com ácido apresentaram ganho de peso durante a armazenagem refrigerada (PPT), enquanto a maturação apresentou perda de peso. Contudo, somente nos tratamentos com ácidos houve correlação significativa e negativa entre PPT e força de cisalhamento;
- a maturação apresentou maior homogeneidade dos resultados de força de cisalhamento, ao contrário dos tratamentos com ácidos que refletiram na textura final a mesma variabilidade do grupo controle;
- monitoramento da cor instrumental assegura que embora tenha ocorrido pequenas alterações de cor, as mesmas não são suficientes para limitar a aceitação da carne tratada com maturação e ácidos;
- monitoramento da qualidade microbiológica da matéria-prima assegura a sua qualidade, no entanto, falhas no processo de embalagem das amostras provocou o desenvolvimento do número de *Pseudomonas* acima do desejado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Compendium of method for the microbiological examination of foods. Washington, 1984.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DE PRODUÇÃO ANIMAL 1997 (ANUALPEC 97). São Paulo: Argos Comunicação; FNP Consultoria & Comércio, 1997. 329p.
- ARGANOSA, G. C.; MARRIOT, N. G. Organic acids as tenderizers of collagen in restructured beef. **Journal of Food Science**, v. 54, n. 5, p. 1173-1176, 1989.
- ASGHAR, A.; YEATES, N.T.M. The mechanism for the promotion of tenderness in meat during the post-mortem process: a review. **Critical Reviews in Food Science Nutrition**, v.10, n.2, p.115-145, 1978.
- BECHTEL, P.J. Muscle development and contractile proteins. In: BECHTEL, P.J. (Ed.). **Muscle as food**. Davis: Academic Press, 1986. cap 1, p. 1-31.
- BELL, R. G.; GAROUT, A. M. The effective product life of vacuum-packaged beef imported into Saudi Arabia by sea, as assessed chemical, microbiological and organoleptic criteria. **Meat Science**, v. 36, n. 3, p.381-396, 1994.
- BENDALL, J. R.; RHODES, D. N. The electrical stimulation of carcasses of meat animal. In: LAWRIE, R. (Ed). **Developments in meat science**. London: Applied Science, 1980, cap. 1, p.37-60.
- BENDALL, J.R.; RHODES, D.N. Electrical stimulation of the beef carcass and its practical application. In: EUROPEAN MEETING MEAT RESEARCH WORK, **Proceedings**. Langford: Meat Research Institute, 1976, p.1-4.
- BENITO-DELGADO, J.; MARRIOT, N.G.; CLAUS, J.R.; WANG, H.; GRAHAM, P.P. Chuck *Longissimus* and *Infraspinatus* muscle characteristics as affected by rigor state, blade tenderization and calcium chloride injection. **Journal of Food Science**, v.59, n.2, p. 295-299, 1994.
- BOAKYE, K.; MITTAL, G.S. Changes in pH and water-holding properties of longissimus dorsi muscle during beef ageing. **Meat Science**, v.34, n.3, p. 335-349, 1993a.

- BOAKYE, K.; MITTAL, G. S. Changes in textural properties of beef *Longissimus dorsi* muscle during aging. **Food Science and Technology**, v. 26, n.2, p. 145-150, 1993b.
- BOMAR, M.T. Rapid method for the determination of bacterial surface contamination in carcasses. **Alimenta**, v.24, p.55-57, 1985.
- BOOREN, A.N.; MANDIGO, R.W.; OLSON, D.G.; JONES, K.W. Effect of muscle type and mixing time on sectioned and formed beef steaks. **Journal of Food Science**, v.46, n.6, p. 1665-1668, 1672, 1981.
- BOUTON, P. E.; HARRIS, P. V. A comparison of some objective methods used to assess meat tenderness. **Journal of Food Science**, v. 37, n.2, p. 218-221, 1972a.
- BOUTON, P.E.; HARRIS, P. V. The effects of cooking temperature and time on some mechanical properties of meat. **Journal of Food Science**, v. 37, n.1, p. 140-144, 1972b.
- BOWLING, R. A.; SMITH, G. C.; CARPENTER, Z. L. Blade tenderization of wholesale cuts from ram lambs and kid goats. **Journal of Animal Science**, v. 43, n.1, p. 122-130, 1976.
- BRUCE, H.L.; BALL, R.O. Postmortem interactions of muscle temperature, pH and extension on beef quality. **Journal of Animal Science**, v.68, n.12, p. 4167-4175, 1990.
- CHRYSTALL, B.B.; DEVINE, C.E.; DAVEY, C.L. Studies in electrical stimulation: post-mortem decline in nervous response in lambs. **Meat Science**, v.4, n.1, p. 69-76, 1980.
- COCHRAN, W. G.; COX, G. M. **Experimental designs**. New York: John Wiley & Sons, 1957. cap. 11, p. 439-482. Balanced and partially balanced incomplete block designs.
- CORNFORTH, D.P.; PEARSON, A.M.; MERKEL, R.A. Relationship of mitochondria and sarcoplasmic reticulum to cold shortening. **Meat Science**, v.4, n.2, p. 103-121, 1980.
- COVER, S; RITCHEY, S.J.; HOSTETKER, R.L. Tenderness of beef 1. The connective tissue component of tenderness. **Journal of Food Science**, v.27, p. 469-475, 1962.
- CROSS, H.R.; CARPENTER, Z.L.; SMITH, G.C. Effects of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness. **Journal of Food Science**, v.38, n.6, p.998-1003, 1973.

- CROUSE, J. D.; KOOHMARAIE, M. Effect of freezing of beef on subsequent postmortem aging and shear force. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 2, p. 573-574, 1990.
- DAVEY, C.L.; GILBERT, K.V. The temperature coefficient of beef ageing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.27, p.244-250, 1976a.
- DAVEY, C.L.; GILBERT, K.V.; CARSE, W.A. Carcass electrical stimulation to prevent cold shortening toughness in beef. **Journal of Agricultural Research**. 19: 13-18, 1976b.
- DAVIS, G. W.; SMITH, G. C.; CARPENTER, Z. L. Effect of blade tenderization on storage life retail caselife and palatability of beef. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 2, p. 330-337, 1977.
- DRANSFIELD, E. Intramuscular composition and texture of beef muscles. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.28, n.9, p. 833-842, 1977.
- DRANSFIELD, E. Modeling post-mortem tenderization IV: role of calpains and calpastatins in conditioning. **Meat Science**, v. 34, n.2, p.217-234, 1993.
- DRANSFIELD, E., ETHERINGTON, D. J., TAYLOR, A. J. Modelling post mortem tenderization - II: enzyme changes during storage of electrically stimulated and non-stimulated beef. **Meat Science**, v. 31, n.1, p. 75-84, 1992.
- ETHERINGTON, D. J. The contribution of proteolytic enzymes to postmortem changes in muscle. **Journal of Animal Science**, v. 59, n. 6, p. 1644-1650. 1984.
- FAO. **Yearbook of production** (1995). Roma, 1996. 235p.
- FELÍCIO, P.E. Produção e qualidade de carne bovina. In: SEMINÁRIO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA CARNE BOVINA, Campinas, 1994. **Anais**. Campinas: Centro de Tecnologia da Carne/Ital, 1995. P. 1-8.
- FELÍCIO, P. E. Carne de touro jovem. In: SEMINÁRIO E WORKSHOP "PRESERVAÇÃO E ACONDICIONAMENTO DE CARNE BOVINA IN NATURA", Campinas, 1997. **Anais**. Campinas: Centro de Tecnologia de Carne/Ital, 1997, p.47-56.
- FERNANDES, J.R. Maturação: alternativa tecnológica para a produção de carne macia. In: SEMINÁRIO E WORKSHOP "PRESERVAÇÃO E ACONDICIONAMENTO DE CARNE BOVINA IN NATURA", Campinas, 1997. **Anais**. Campinas: Centro de Tecnologia de Carne/Ital, 1997, p.47-56.
- FOEGEDING, E.A; LARICK, D.K. Tendereization of beef with bacterial collagenase. **Meat Science**, v.18, n.3, p.201-214, 1986.

FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA.
Anuário Estatístico do Brasil (1996). Rio de Janeiro, 1997. v. 56.

GAULT, N. F. S. The relationship between water-holding capacity and cooked meat tenderness in some beef muscles as influenced by acidic conditions below the ultimate pH. **Meat Science**, v. 15, n.1, p. 15-30, 1985.

GEORGE, A.R.; BENDALL, J.R.; JONES, R.C.D. The tenderizing effect of electrical stimulation of beef carcasses. **Meat Science**, v.4, n.1, p. 51-68, 1980.

GILL, C.O. Extending the storage life of row chilled meats. **Meat Science**, v.43, n.S, p.S99-S109, 1996.

GLOVER, E.E.; FORREST, J.C.; JOHNSON, H.R.; BRAMBLETT, V.D.; JUDGE, M.D. Palatability and cooking characteristics of mechanically tenderized beef. **Journal of Food Science**, v. 42, n.4, p.871-874, 1977.

GOLL, D.E.; ROBSON, R.M.; STROMEWR, M.H. Músculo esquelético, sistema nervoso, regulação da temperatura e sentidos especiais. In: SWENSON, M.J. (Ed.). **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. cap 36, p. 479-506.

GREASER, M.L. Conversion of muscle to meat. In: BECHTEL, P.J. (Ed.). **Muscle as food**. Davis: Academic Press, 1986. cap. 2, p.37-87.

GEESINK, G. H.; KOOLMEES, P. A.; VAN LAACK, H. L. J. M.; SMULDERS, F. J. M. Determinations of tenderization in beef *Longissimus dorsi* and *Triceps brachii* muscles. **Meat Science**, v. 41, n.1, p. 7-17, 1995.

GÜRTLER, H; KETZ, H.A.; KOLB, E.; SCHRÖDER, L.; SEIDEL, H. **Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. p.431-453: Fisiologia geral dos nervos.

HARREL, R. A.; BIDNER, T. D.; ICAZA, E. A. Effect of altered muscle pH on beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 46, n.6, p. 1592-1596, 1978.

HAYWARD, L.H.; HUNT, M. C.; KASTNER, C. L. Blade tenderization effects on beef longissimus sensory and instron textural measurements. **Journal of Food Science**, v. 45, n.4, p. 925-930, 935, 1980.

HILL, F. The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. **Journal of Food Science**, v.31, p. 161-166, 1966.

HONIKEL, K.O.; RONCALES, P.; HAMM, R. The influence of temperature on shortening and rigor onset in beef muscle. **Meat Science**, v.8, n.3, p. 221-241, 1983.

- HONIKEL, O.K.; FISCHER, C.A. A rapid method for the detection of PSE and DFD porcine muscles. **Journal of Food Science**, v.42, n.6, p. 1633-1636, 1977.
- HOWAT, P.M.; SIEVERT, L.M.; MYERS, P.J.; KOONCE, K.L.; BIDNER, T.D. Effect of marination upon mineral content and tenderness of beef. **Journal of Food Science**, v. 48, n.2, p. 662-663, 1983.
- HUFF, E.J.; PARRISH, F.C. Jr. Bovine *longissimus* muscle tenderness as affected by post mortem aging time, animal age and sex. **Journal of Food Science**, v.58, n.4, p.713-716, 1993.
- KANG, C.H.; RICE, E.E. Degradation of various meat fractions by tenderizing enzymes. **Journal of Food Science**, v.35, n.5, p.563-565, 1970.
- KHAN, A. W. Some factors causing variation in the texture of similar muscles from comparable animals. **Meat Science**, v. 1, n.3, p. 169-176, 1977.
- KHAN, A.W; FREY, A.R. A simple method for following *rigor mortis* development in beef and poultry meat. **Journal Canadian Institute of Food Technology**, v.4, n.4, p.139-142, 1971.
- KIJOWSKI, J.; MAST, M. G. Tenderization of spent fowl drumsticks by marination in weak organic solutions. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 28, n.4, p. 337-342, 1993.
- KOOHMARAIE, M. Effect of pH, temperature, and inhibitor on autolysis and catalytic activity of bovine skeletal muscle μ -calpain. **Journal of Animal Science**, v. 70, n.10, p. 3071-3080, 1992.
- KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, v. 36, n.1/2, p. 93-104, 1994.
- KOOMARAIE, M.; SEIDEMAN, S.C.; CROUSE, J.D. Effect of subcutaneous fat and high temperature conditioning on bovine meat tenderness. **Meat Science**, v.23, n.2, p. 99-109, 1988.
- KUBOTA, E.H.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Maturação da carne: um processo enzimático. **Revista Nacional da Carne**, v. 18, n. 200, p. 12-14, 1993.
- LANARI, M.C.; BEVILACQUA, A.E.; ZARITZKY, N.E. Changes in tenderness during aging of vacuum-packaged beef. **Journal of Food Processing and Preservations**, v.11, n.2, p. 95-109, 1987.
- LAWRIE, R.D. **Meat science**. New York: Pergamon Press, 1985. cap 5, p.74-91: The conversion of muscle to meat.

- LEITÃO, M.F.F. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos. In: ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L. **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Manole, v.1., p.70-76, 1988.
- LI, Y.; SIEBENMORGEN, T.; GRIFFIS, C. Electrical stimulation in poultry: a review and evaluation. **Poultry Science**, v. 72, n.1, p. 7-22, 1993.
- LISTER, D.; GREGORY, N. G.; WARRIS, P. D. Stress in meat animals. In: LAWRIE, R. (Ed). **Developments in meat science**, London: Applied Science, 1981. cap. 2, p. 61-92.
- LOCKER, R.H.; DAINES, G.J.; CARSE, W.A.; LEET, N.G. Meat tenderness and the gap filaments. **Meat Science**, v.1, n.2, p. 87-104, 1977.
- LOCKER, R.H.; HAGYARD, C.J. A cold shortening effect in beef muscles. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.14, p. 787-793, 1963.
- LYON, M.; KASTNER, C.L.; DIKMAN, M.E.; HUNT, M.C.; KROPF, D.H.; SCHWENKE, J.R. Effects of electrical stimulation, aging, and blade tenderization on hot-boned *Psoas major* and *Triceps brachii* muscles. **Journal of Food Science**, v.48, n.1, p.131-135, 1983.
- MARSH, B.B.; LEET, N.G. Studies in meat tenderness. III. The effects of cold shortening on tenderness. **Journal of Food Science**, v.31, p.450-459, 1966.
- MARSH, B.B.; LOCHNER, J.V.; TAKAHASHI, G.; KRASNESS, D.D. Effects of early post mortem pH and temperature on beef tenderness. **Meat Science**, v.5, n.6, p. 479-483, 1981.
- MARSH, B.B.; RINGKOB, T.P.; RUSSEL, R.L.; SWARTZ, D.R.; PAGEL, L.A. Effects of early-postmortem glycolytic rate on beef tenderness. **Meat Science**, v.21, n.4, p. 241-248, 1987.
- MARSH, B.B.; WOODHAMS, P.R.; LEET, N.G. Studies in meat tenderness. V. Effects of carcass cooling and frezing before completion of rigor mortis. **Journal of Food Science**, v.33, n.4, p.12-18, 1968.
- MOELLER, P.W.; FIELDS, P.A.; DUTSON, T.R.; LANDMANN, W.A.; CARPENTER, Z.L. High temperature effects on lysosomal enzyme distribution and fragmentation of bovine muscle. **Journal of Food Science**, v.42, n.2, p. 510-512, 1977.
- NEWSOME, R. L., LANGLOIS, B. E.; MOODY, W. G.; NELSON GAY; FOX, J. D. Effect of time and method of aging on the microbiological quality of beef loins and corresponding steaks. **Journal of Food Protection**, v. 47, n.2, p. 122-125, 1984.

- OFFER, G.; TRINICK, J. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Science**, v.8, n.4, p.245-281, 1983.
- ORESKOVICH, D. C.; BECHTEL, P. J.; McKEITH, F. K.; NOVAKOFSKI, J.; BASGALL, E. J. Marinade pH affects textural properties of beef. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 2, p. 305-311, 1992.
- ORNELLAS, L.H. **Técnica e dietética**. São Paulo: Atheneu, 1988. Cap.9, p. 120-146: Carnes.
- PASSOS, R.B. Embalagem a vácuo, maturação e microbiologia. **Revista Nacional da Carne**, v.16, n.184, p. 55-59, 1992.
- PAYNE, S. R.; DURHAM, S. M.; SCOTT, S. M.; PENNEY, N.; BELL, R.G.;DEVINE, C.F. The effects of rigor temperature, electrical stimulation, storage duration and packaging systems on drip loss in beef. In: **INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE TECHNOLOGY**, 43, Ockland, 1997. **Proceedings**. Ockland: New Zealand Pastoral Agriculture Reserch Institute, 1997. p. 784.
- PEARSON, A.M.; DUTSON, T.R. **Advanced in meat research**. Westport: The AVI Public Company, 1985. cap.6, p.185-218: Scientific basis for electrical simulation.
- PENNY, I. F.; VOYLE, C. A.; LAWRIE, R. A. A comparison of freeze-dried beef muscles of high or low ultimate pH. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 14, p. 535-543,1963.
- PETÄJÄ, E.; KUKKONEN, E.; PUOLANNE, E. Effect of post-mortem temperature on beef tenderness. **Meat Science**, v.12, n.3, p. 145-154, 1985.
- PLANT, T. M.; TAYLOR, D. G.; DHANDA, J. S. Tenderness relationships between four raw and cooked beef muscles. In: **INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE TECHNOLOGY**, 43, Ockland, 1997. **Proceedings**. Ockland: New Zealand Pastoral Agriculture Reserch Institute, 1997. p. 784.
- POWELL, V.H. Quality of beef loin steaks as influenced by animal age, electrical stimulation and ageing. **Meat Science**, v.30, n.3, p.195-205, 1991.
- PURCHAS, R.W. An assessment of the role of pH differences in determining the relative tenderness of meat from bulls an steers. **Meat Science**, v.27, n.2, p.129-140, 1990.
- QUALI, A.; TALMAT, A. Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. **Meat Science**, v.28, n.4, p.331-348, 1990.

- RAO, M. V.; GAULT, N.F.S.;KENNEDY,S. Variations in water-holding capacity due to changes in the fibre diameter, sarcomere length and connective tissue morphology of some beef muscles under acidic conditions below the ultimate pH. **Meat Science**, v.26, n.1, p.19-37, 1989.
- RAO, M.V.; GAULT, N.F.S. Acetic acid marinading the rheological characteristics of some raw and cooked beef muscles wich contribute to changes in meat tenderness. **Journal of Texture Studies**, v.21, n.4, p. 455-477, 1990.
- ROÇA, R.O.; SERRANO, A.M. Abate de bovinos, alterações microbianas da carcaça. **Higiene Alimentar**, v.9, n.35, p.8-13, 1995.
- ROWE, R.W.D. Collagen fiber arrangement in intramuscular connective tissue. Changes associated to raw meat toughness measurements. **Journal of Food Technology**, v.9, n.4, p. 501-508, 1974.
- SÃO PAULO (Estado). **Código sanitário**. Decreto nº.12342 de 27/09/78. 5ª ed., São Paulo: Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, 1992.
- SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.;ALVES, R. M. V.;ARIMA, H. A.;CONTRERAS, C. J. C.;GOMES, T. C. Estabilidade de carne bovina em atmosfera modificada após maturação em embalagens a vácuo. **Coletânea do Ital**, v. 26, n. 2, p.143-154, 1996.
- SAVELL, J.W.; SMITH, G.C.; CARPENTER, Z. L. Blade Tenderization of four muscles from three weight-grade groups of beef. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 4, p. 866-870, 1977.
- SEIDEMAN, S. C.; SMITH, G.C.; CARPENTER, Z. L. Blade tenderization of beef *Psoas major* and *Semitendinosus* muscles. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 6, p.1510-1512, 1977.
- SEUSS, I.; MARTIN, M. The influence of marinading with food acids on the composition and sensory properties of beef. **Fleischwirtschaft**, v. 73, n. 3, p. 292-295, 1993.
- SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M. Relationship between shear force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscles from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, n.6, p. 3333-3340, 1995.
- SHORTHOSE, W.R. Factor affecting beef tenderness. In: AVANÇOS E PERSPECTIVAS EM TECNOLOGIA DE CARNES, Campinas, 1996. **Anais**. Campinas: Centro de Tecnologia de Carne/Ital, 1996. p. 71-81.

- SHORTHOSE, W.R.; HARRIS, P.V. Meat: texture and rheology. In: HUI, Y.H. **Encyclopedia of food science and technology**. New York: John Wiley & Sons, 1992. v.3, p. 1751-1762.
- SKURRAY, G. R.; PERKES, J. M.; DUFF, J. Effect of marinating with wine, sodium bicarbonate or soy sauce on the thiamin content of beef. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 4, p. 1059-1060, 1986.
- SMITH, G. C.; ARANGO, T.C.; CARPENTER, Z.L. Effects of physical and mechanical treatments on the tenderness of the beef longissimus. **Journal of Food Science**, v. 36, n.3, p. 445-449, 1971.
- SOARES, G.J.D. Efeito da estimulação elétrica de alta voltagem na qualidade da carne. São Paulo, 1992. 80p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- SORINMADE, S.O.; CROSS, H.R.; ONO, K.; WERGIN, W.P. Mechanisms of ultrastructural changes in electrically stimulated beef *longissimus* muscle. **Meat Science**, v.6, n.1, p.71-77, 1982.
- STANTON, C.; LIGHT, N. The effects of conditioning meat collagen: past 4 - the use of pre-rigor acid injection to accelerate conditioning in bovine meat. **Meat Science**, v. 27, n.2, p. 141-159, 1990.
- TAKAHASHI, G. Técnicas para melhorar a qualidade: fatores "post-mortem". **Revista Nacional da Carne**. v.16, n.184, p. 27-31, 1992.
- TAKAHASHI, K. Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: the non-enzymatic mechanism of meat tenderization. **Meat Science**, v.43, n.5, p. 567-580, 1996.
- TATUM, J.D.; SMITH, G.C.; CARPENTER, E.L. Blade tenderization of steer, cow and bull beef. **Journal of Food Science**, v.43, n.3, p.819-822, 1978.
- TAYLOR, D.G.; CORNELL, J.G. The effects of electrical stimulation and ageing on beef tenderness. **Meat Science**, v.12, n.4, p. 243-251, 1985.
- TROUT, G.R. Techniques for measuring water-binding capacity in muscle foods - a review of methodology. **Meat Science**, v.23, n.4, p.235-252, 1988.
- VELAZCO, J. Métodos para mejorar la suavidad de la carne. **Carnetec**, p. 14-16, set. 1995.
- WENHAM, L. M.; LOCKER, R.H. The effects of marinating on beef. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 27, n.12, p. 1079-1084, 1976.

- WHEELER, T.L.; KOOHMARAIE, M. Effects of the β -adrenergic agonist L_{664,669} on muscle protein turnover, endogenous proteinase activities, and meat tenderness in steers. **Journal of Animal Science**, v.70, n.19, p.3035-3043, 1992.
- WHITING, R. C.; STRANGE, D.D. Effects of lactic acid on epimysial connective tissues of muscles used for restructured beef steaks. **Journal of Food Science**, v. 5, n. 3, p. 859-860, 1990.
- YU, L. P.; LEE, Y. B. Effects of postmortem pH and temperature on bovine muscle structure and meat tenderness. **Journal of Food Science**, v. 51, n.3, p. 774-780, 1986.

APÊNDICES

Apêndice 1. Médias de Valor R nas primeiras 9 horas após os abates (Experimento 1).

Horas	estimulado	não-estimulado
1	0,86	0,91
2	0,98	0,87
3	0,99	0,83
4,5	1,05	0,87
6	1,15	0,99
9	1,28	1,05

Apêndice 2. Resultados das médias de pH nas primeiras 24 horas após os abates (Experimento1).

Horas	pH1		pH2		pH2 estimulado	
	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão
1	7,09	0,06	7,12	0,05	7,17	0,06
2	7,05	0,09	6,94	0,11	6,46	0,02
3	6,93	0,09	6,80	0,07	6,30	0,05
4	6,93	0,06	6,69	0,11	6,17	0,00
5	6,78	0,16	6,77	0,09	6,17	0,12
6	6,72	0,06	6,54	0,20	6,04	0,19
7	6,10	0,23	6,64	0,07	5,76	0,07
24	5,6	0,08	5,48	0,06	5,39	0,08

pH1: abate I

pH2: abate II

Apêndice 3. Comparação das Médias das Perdas de Peso por Tratamento pelo Teste de Fischer (Mínima Diferença Significativa); * $p < 0,05$ (Experimento 1).

Tratamentos	Controle -1,82	Maturação 9 dias -0,81	Maturação 14 dias -2,45	Ácido láctico 0,2 M 0,49	Ác. acético 0,1 M -0,64	Tenderiza. mecânica -1,87	Estimulação elétrica -1,61
Controle	--	--	--	--	--	--	--
Maturação 9 dias	0,071583	--	--	--	--	--	--
Maturação 14 dias	0,244128	0,006881 **	--	--	--	--	--
Ácido láctico 0,2 M	0,000534 ***	0,024718 *	0,000057 ***	--	--	--	--
Ác. acético 0,1 M	0,038984 **	0,747692	0,003583 **	0,046183 *	--	--	--
Tenderiza. mecânica	0,924491 *	0,060041 *	0,281808	0,000444 ***	0,032449 *	--	--
Estimulação elétrica	0,686769	0,146444	0,125891	0,001186 ***	0,083180	0,619203	--

ausência de superíndice = $p > 0,05$ * = $p < 0,05$ ** = $p < 0,01$ *** = $p < 0,001$

Apêndice 4. Comparação das médias das perdas de peso por cozimento pelo teste de Fischer (Mínima Diferença Significativa); * $p < 0,05$ (Experimento 1).

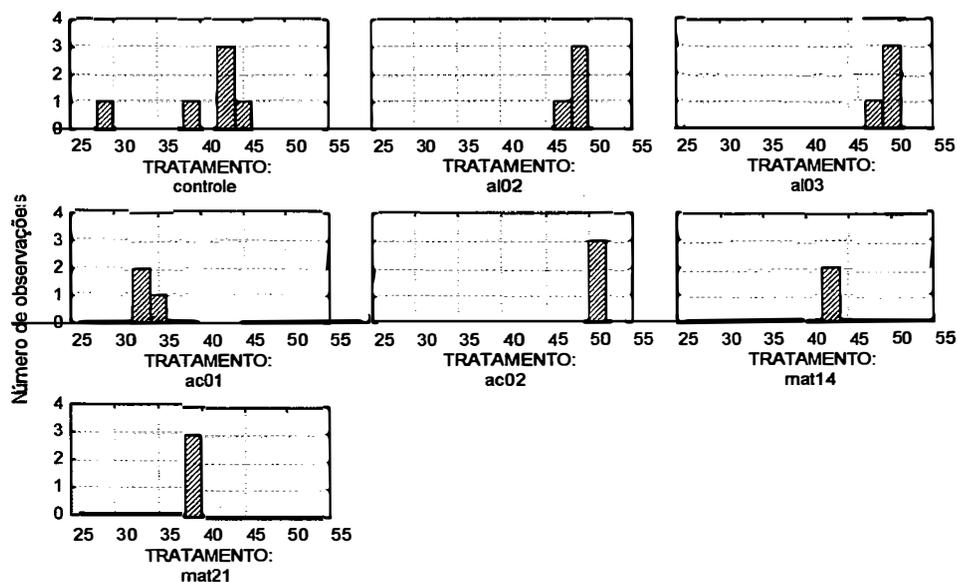
Tratamentos	Controle 38,39000	Maturação 9 dias 39,44333	Maturação 14 dias 36,92333	Ácido láctico 0,2 M 43,19333	Ác. acético 0,1 M 41,72000	Tenderiza. mecânica 33,87667	Estimulação Elétrica 37,61000
Controle	--	--	--	--	--	--	--
Maturação 9 dias	0,482081	--	--	--	--	--	--
Maturação 14 dias	0,331696	0,106022	--	--	--	--	--
Ácido láctico 0,2 M	0,005334 *	0,022194 *	0,000735 *	--	--	--	--
Ác. acético 0,1 M	0,038569 *	0,140865	0,005383 *	0,329578	--	--	--
Tenderiza. mecânica	0,007921 *	0,001888 *	0,055470	0,000017 *	0,000098 *	--	--
Estimulação elétrica	0,601200	0,229343	0,645049	0,001846 *	0,013691 *	0,022692 *	--

ausência de superíndice = $p > 0,05$ * = $p < 0,05$ ** = $p < 0,01$ *** = $p < 0,001$

Apêndice 5. Matriz de correlação entre os valores de cor instrumental antes e depois dos tratamentos de maturação 9 e 14 dias (Nº de amostras; Experimento 1).

Variáveis	L* antes	a* antes	b* antes	L* depois	a* depois	b* depois
L* antes	--	--	--	--	--	--
a* antes	0,4057	--	--	--	--	--
b* antes	0,3322	0,9389**	--	--	--	--
L* depois	0,7820	0,6943	0,5474	--	--	--
a* depois	0,3164	0,0520	0,1951	- 0,0396	--	--
b* depois	0,5901	- 0,0094	0,1080	0,2233	0,8953*	--

correlações não-marcadas = $p > 0,05$ * = $p < 0,05$ ** = $p < 0,01$



Apêndice 6. Histograma categorizado por variável: PPC (em %); Experimento 2.

Apêndice 7. Comparação das médias de força de cisalhamento por tratamento pelo Teste de Fischer (mínima diferença significativa). Experimento 2.

Tratamentos	Controle	Ác. Lático 0,2M	Ác. Lático 0,3M	Ác. Acético 0,1M	Ác. Acético 0,2M	Maturação 14 dias	Maturação 21 dias
	5,6200	4,2575	5,3425	4,6700	5,1800	3,0000	3,4300
Controle	-	-	-	-	-	-	-
Ác. Lático 0,2M	,027334**	-	-	-	-	-	-
Ác. Lático 0,3M	,630648	,097879	-	-	-	-	-
Ác. Acético 0,1M	,143736	,546565	,329697	-	-	-	-
Ác. Acético 0,2M	,488011	,186226	,811453	,486381	-	-	-
Maturação Por 14 dias	,001827***	,115844	,006489**	,051937*	,014127**	-	-
Maturação por 21 dias	,002424**	,233526	,010652**	,101112	,025330*	,598553	-

Ausência de superíndice= $p>0,05$ *= $p<0,05$ **= $p<0,01$ ***= $p<0,001$

Apêndice 8. Comparação das médias de perda de peso por cozimento (PPC) por tratamento pelo Teste de Fischer (mínima diferença significativa). Experimento 2.

Tratamentos	Controle	Ác. Lático 0,2M	Ác. Lático 0,3M	Ác. Acético 0,1M	Ác. Acético 0,2M	Maturação por 14 dias	Maturação por 21 dias
	40,4350	48,7975	48,4075	33,8733	50,0800	43,9250	39,2467
Controle	-	-	-	-	-	-	-
Ác. Lático 0,2M	,000820***	-	-	-	-	-	-
Ác. Lático 0,3M	,001245***	,866334	-	-	-	-	-
Ác. Acético 0,1M	,010126**	,000010***	,000014***	-	-	-	-
Ác. Acético 0,2M	,000512***	,609524	,506461	,000008***	-	-	-
Maturação por 14 dias	,202333	,098623	,126493	,003131**	,051357*	-	-
Maturação por 21 dias	,609234	,001119***	,001592**	,056604	,000661***	,130041	-

Ausência de superíndice= $p<0,05$ *= $p<0,05$ **= $p<0,01$ ***= $p<0,001$

Apêndice 9. Comparação das médias de perda de peso por tratamento pelo Teste de Fischer (mínima diferença significativa). Experimento 2.

Tratamentos	Controle	Ác. Lático 0,2M	Ác. Lático 0,3M	Ác. Acético 0,1M	Ác. Acético 0,2M	Matura- ção por 14 dias	Matura- ção por 21 dias
	-3,3517	1,0225	4,5575	2,8167	3,5400	-4,8500	-2,2967
Controle	-	-	-	-	-	-	-
Ác. Lático 0,2M	,000888***	-	-	-	-	-	-
Ác. Lático 0,3M	,000002***	,008414**	-	-	-	-	-
Ác. Acético 0,1M	,000081***	,177271	,189771	-	-	-	-
Ác. Acético 0,2M	,001465***	,194897	,592059	,711583	-	-	-
Maturação Por 14 dias	,286523	,000883***	,000007***	,000119***	,000809***	-	-
Maturação por 21 dias	,383310	,018910*	,000060***	,001701**	,007849*	,112267	-

Ausência de superíndice= $p>0,05$ *= $p<0,05$ **= $p<0,01$ ***= $p<0,001$