



**LORENA MENDES RODRIGUES**

**MATURAÇÃO ACELERADA DA CARNE BOVINA  
COMBINADA COM APLICAÇÃO DA RADIAÇÃO GAMA**

**LAVRAS - MG  
2020**

**LORENA MENDES RODRIGUES**

**MATURAÇÃO ACELERADA DA CARNE BOVINA COMBINADA COM APLICAÇÃO  
DA RADIAÇÃO GAMA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração Ciência dos Alimentos para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Eduardo Mendes Ramos  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Rodrigues, Lorena Mendes.

Maturação acelerada da carne bovina combinada com aplicação  
da radiação gama / Lorena Mendes Rodrigues. - 2020.

122 p.

Orientador(a): Eduardo Mendes Ramos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Maciez. 2. Compostos Voláteis. 3. Oxidação proteica e  
lipídica. I. Ramos, Eduardo Mendes. II. Título.

**LORENA MENDES RODRIGUES**

**MATURAÇÃO ACELERADA DA CARNE BOVINA COMBINADA COM APLICAÇÃO  
DA RADIAÇÃO GAMA**

**ACCELERATED BEEF AGING COMBINED WITH GAMMA RADIATION**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração Ciência dos Alimentos para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 16 de dezembro de 2020.

Profa. Dra. Alcineia de Lemos Souza Ramos UFLA

Prof. Dr. Aureliano Claret, da Cunha UFOP

Prof. Dr. Paulo Rogério Fontes UFV

Prof. Dr. Robledo de Almeida Torres Filho UFV

Prof. Dr. Eduardo Mendes Ramos  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2020**

*Aos meus pais, José Rodrigues e Marlene,*

*Aos meus avôs Pedro, Nivalda e Hilda,*

*Ao meu namorado Ricardo Maia,*

*E aos meus familiares e amigos.*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado o dom da vida, por ter me concedido força e coragem para a realização de mais este sonho e por estar sempre ao meu lado, tornando minha caminhada mais leve.

À minha Nossa Senhora, por ser meu porto seguro e estar sempre ao meu lado, me guiando, me ajudando a ser forte e a ter fé na minha caminhada.

À Universidade Federal de Lavras, em especial, ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), pela oportunidade da formação acadêmica.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos (PPGCA), pela oportunidade de ter feito o Doutorado e ter sido recebida de portas abertas.

Ao Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia (CNPq; 430206/2016-0) e à Fundação para a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG; CVZ APQ-02015-15), pelo financiamento do projeto.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pela concessão da bolsa de pesquisa, agradeço.

Ao Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN/CENEN), na figura do Dr. Márcio Tadeu Pereira, pela disponibilidade para irradiar as amostras utilizadas no projeto. Agradeço à Lorraine e o Sr. Osmar por toda dedicação e apoio durante a irradiação das amostras para que tudo corresse da melhor forma possível. Muito obrigada!

À Plena Alimentos, em especial ao Marcus Vinícios, à Carla e ao Washington, pela ajuda durante a coleta das amostras e por ter feito possível a realização de parte do meu experimento. Muito obrigada pelo carinho e ajuda!

Ao meu orientador, professor Eduardo Mendes Ramos, por ter me recebido em seu laboratório, acreditado em mim e me orientado durante esses cinco anos, tornando possível a realização de mais esse sonho e me ajudando em cada detalhe para que a caminhada fosse mais tranquila e especial. Muito obrigada por toda ajuda e dedicação. Serei eternamente grata a você e levarei seus ensinamentos comigo por onde quer que eu vá, pois foram essenciais para que eu me tornasse a pessoa e profissional que sou hoje. Seu exemplo de pessoa e profissional serão meu

espelho para que eu tente evoluir sempre mais, pois orientador você sempre foi nosso amigo. Obrigada, por tudo!

À professora Alcinéia Ramos, por ter me recebido em seu laboratório e por estar comigo, me orientado e ajudando nessa caminhada de cinco anos em Lavras. Muito obrigada pelo carinho, pela amizade, pelos aprendizados e por ter aceitado participar da minha banca!

Ao professor Robledo Torres Filho, por ter acreditado em mim e me dado todo o apoio para que eu chegasse até aqui. Você me mostrou que por trás do grande professor que você é, existe um amigo que poderei contar sempre que eu precisar. Muito obrigada, por tudo que fez por mim e, principalmente, por sua amizade, por seus ensinamentos e por ter aceitado participar da minha banca.

Ao professor Paulo Rogério, pela sua dedicação em me orientar sempre e por me ensinar cada dia mais. Muito obrigada por sua amizade, pela ajuda no meu experimento, por ter aceitado participar da minha banca e por ter permitido conviver com o ser humano incrível que você é.

Ao professor Aureliano Cunha por ter aceitado participar da minha banca e contribuir ainda mais para o meu trabalho. Obrigada!

À professora Vanelle Silva, por ter me recebido em sua casa junto ao seu esposo Robledo, e por ter me concedido sua amizade. Muito obrigada pelos ensinamentos e amizade!

Agradeço a todos os professores e técnicos do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), pelos ensinamentos e por todo apoio durante o meu Doutorado. Em especial, agradeço à professora Lizzy pela ajuda nas análises de eletroforese; à professora Roberta por ter disponibilizado seu laboratório para que eu realizasse minhas análises microbiológicas; à Creuza, à Ana Alice, à Tina e ao Felipe pela ajuda durante meu experimento e pela amizade, e à Lucilene e à Kirian, por estarem sempre prontas a me ajudar e pelo carinho de sempre.

Agradeço à Central de Análises e Prospecção Química da UFLA, e a FINEP, FAPEMIG, CNPq e CAPES pelo fornecimento dos equipamentos e suporte técnico para experimentos envolvendo análises cromatográficas. Em especial, à Lidiany, pela ajuda nas análises cromatográficas e paciência que tornou possível a realização destas. Muito obrigada por tudo!

Aos meus pais, José Rodrigues e Marlene, por fazerem o possível e o impossível para que eu seja feliz e para que meus sonhos se tornem realidade. Muito obrigada por serem como são e

por me fazer a pessoa mais feliz desse mundo, pois se sou o que sou hoje é graças a vocês, que são meu porto seguro. Vocês são tudo na minha vida, eu amo muito vocês!

Aos meus avós Pedro, Nivalda e Hilda, por serem meus amores e minhas joias mais raras. Sou a neta mais feliz desse mundo, pois Deus não poderia ter me concedido melhor presente, que é ser neta de vocês. Muito obrigada pelo amor, pelo carinho, pela paciência e por tornar minha vida mais leve e feliz! Amo muito vocês!

Ao meu namorado Ricardo Maia, por me oferecer todos dias seu amor e seu carinho, que se fazem presente em minha vida, independente da distância. Muito obrigada por ter sido meu amparo nas horas difíceis e meu sorriso nas horas felizes. Sou a pessoa mais feliz nesse mundo por ter você a meu lado, te amo muito!

Ao meu afilhado Samuel de Moraes, por ter me mostrado o mais puro amor e por sua pureza tornar meus dias mais alegres. Muito obrigada meu pequeno príncipe, por tornar minha vida feliz e mais fácil, principalmente quando estou ao seu lado. Você é meu presente de Deus, tia Ena te ama muito!

À minha tia Marli e meu tio Moraes, por terem me recebido de braços abertos em Lavras e por estarem sempre ao meu lado. Muito obrigada por tudo que fazem por mim e por fazer da minha temporada em Lavras, a melhor!

Aos meus familiares, por serem meu maior tesouro e por eu poder contar sempre com vocês. Muito obrigada por todo amor!

À minha família LabCarnes, Angélica, Marielle, Greicy, Irina, Bruna, Maira, Johnathan, Luisa, Thales, Lucas, Amanda Amador, Amanda Carolina, Jean, Bárbara, Júlia, Hewerton, Douglas, Abel, Adelaide, Marcelo, Jefferson, Gabriela, Ítalo, Ana Paula e Sâmia, por tornarem meus dias mais felizes e por me ajudarem tanto a atingir meus objetivos. Em especial, à Marielle, à Angélica, à Bruna, o Johnathan, à Adelaide, o Thales, à Maira, a Gabriela e a Sâmia, por terem me ajudado tanto durante o meu experimento, muito obrigada! Vocês estarão eternamente guardados em meu coração!

Às minhas amigas Angélica, Jéssica, Marielle e Bruna, por serem meus maiores presentes de Lavras. Muito obrigada por tudo que vocês fazem por mim! Vocês são meu presente de Deus e sou muito grata pela amizade de vocês. Eu amo muito vocês!

Aos meus amigos Sérgio Henrique, Maria Cecília, Michele Carlota (Mi), Raquel, Heloísa, Michele, Amanda, Ana Paula (Paulinha), Mariá e a Renata por terem feito meus dias na UFLA



mais leves e me proporcionado estar perto de vocês e receber suas amizades. Em especial, à Mi, à Heloísa e à Raquel por me ajudarem realizar minhas análises microbiológicas. A ajuda de vocês foi essencial para mim. Muito obrigada!

Aos meus amigos Jonas, Natália e Diene por sempre acreditarem em mim e serem meus companheiros durante todos os meus caminhos. Muito obrigada por tudo, amo vocês!

À professora Márcia Maria de Carvalho, por ter me ensinado tanto e nunca ter desistido de mim! Você me fez e me faz crescer a cada dia mais, como pessoa e profissional. Muito obrigada por todo carinho, amizade, pelas oportunidades de crescimento e por estar sempre ao meu lado!

À Ana Elisa e Aline por estarem sempre prontas a me ajudar e por trazerem sempre, muito carinho e dedicação!

E, a todos que direta e indiretamente, fizeram parte desse trabalho, muito obrigada! Serei eternamente grata a todos vocês!

*“Tudo posso naquele que me fortalece”. (Filipenses 4, 13)*

## RESUMO GERAL

A necessidade de solucionar a inconsistência da maciez da carne bovina brasileira proporcionou o objetivo de avaliar os efeitos da irradiação gama (3 kGy) sobre a qualidade da carne bovina (*M. Longissimus lumborum*) maturada (por 1, 4, 7, 14 e 21 dias) sob diferentes temperaturas (1, 7 e 15 °C). A capacidade de retenção de água foi menor ( $P < 0,05$ ), enquanto a purga e a perda de massa por cozimento foram maiores ( $P < 0,05$ ) nas amostras irradiadas. As amostras maturadas a 7 e 15 °C também apresentaram maior ( $P < 0,05$ ) purga. Houve uma redução ( $P < 0,05$ ) nos teores de colágeno insolúvel e total nas amostras irradiadas e maturadas a 7 e 15 °C, o que não ocorreu ( $P > 0,05$ ) nas amostras não irradiadas. O aumento da temperatura de maturação proporcionou ( $P < 0,05$ ) maior índice de fragmentação miofibrilar e menor força de cisalhamento. Entretanto, a irradiação proporcionou ( $P < 0,05$ ) menor fragmentação miofibrilar e maior força de cisalhamento. A temperatura de maturação não afetou ( $P > 0,05$ ) os pigmentos relativos à mioglobina e os índices de cor, mas a irradiação proporcionou ( $P < 0,05$ ) menores teor de oximioglobina e luminosidade ( $L^*$ ). A oxidação proteica dos contrafilés não foi afetada ( $P > 0,05$ ) pela irradiação, sendo maior ( $P < 0,05$ ) nas amostras maturadas por 14 dias a 15 °C. A oxidação lipídica foi maior ( $P < 0,05$ ) nas amostras irradiadas e maturadas por 14 dias, à altas temperaturas (7 e 15 °C). A contagem de bactérias mesófilas e do ácido láctico foram maiores ( $P < 0,05$ ) nos contrafilés maturados a 7 e 15 °C, não-irradiados. A irradiação reduziu ( $P < 0,05$ ) a contagem de mesófilos em todos os tratamentos, mantendo abaixo do limite máximo aceitável ( $10^7$  UFC/g) durante toda a maturação. O uso de maiores temperaturas de maturação aumentou ( $P < 0,05$ ) a formação de compostos voláteis relacionados aos processos deteriorativos (oxidação lipídica e proteica, e desenvolvimento microbiano), sendo maior ( $P < 0,05$ ) nas amostras não-irradiadas armazenadas a 15 °C. A irradiação teve pouco efeito sobre o perfil de compostos voláteis, sendo o sulfeto de dimetila, o principal composto formado e apresentando potencial de uso como marcador da irradiação. O uso de temperaturas de refrigeração, maiores que a convencional (1 °C), no processo de maturação, com o intuito de acelerar o amaciamento da carne bovina pode ser conduzido utilizando a irradiação gama (3 kGy) como controle do desenvolvimento microbiano. Obinômio tempo e temperatura de maturação ideal devem ainda ser definidos, sendo sugerido o uso de temperaturas de 7 °C nos primeiros 7 dias de maturação.

**Palavras-chave:** Maciez. Compostos voláteis. Oxidação proteica e lipídica. Mesófilos.

## GENERAL ABSTRACT

The need to solve the inconsistency in Brazilian beef tenderness the effects of gamma irradiation (3 kGy) on beef quality (*M. Longissimus lumborum*) during aging (1, 4, 7, 14 and 21 days) under different temperatures (1, 7 and 15 °C) were evaluated. The water retention capacity was lower ( $P < 0.05$ ), while purge and cooking losses were higher ( $P < 0.05$ ) in the irradiated samples. The samples aged at 7 and 15 °C also presented a higher ( $P < 0.05$ ) purge. There was a reduction ( $P < 0.05$ ) in the insoluble and total collagen contents in irradiated and aged at 7 and 15 °C samples, which did not occur ( $P > 0.05$ ) in the non-irradiated ones. The increase in the aging temperature provided ( $P < 0.05$ ) a higher myofibrillar fragmentation index and less shear force. However, irradiation provided ( $P < 0.05$ ) less myofibrillar fragmentation and greater shear force. The aging temperature did not affect ( $P > 0.05$ ) the myoglobin chemical forms neither the CIE color indexes, but the irradiation provided ( $P < 0.05$ ) lower oxymyoglobin content and luminosity ( $L^*$ ). The protein oxidation was not affected ( $P > 0.05$ ) by irradiation, being higher ( $P < 0.05$ ) in samples aged for 14 days at 15 °C. The lipid oxidation was higher ( $P < 0.05$ ) in the samples irradiated and aged at high temperatures (7 and 15 °C) for 14 days. The mesophilic and lactic acid bacteria counts were higher ( $P < 0.05$ ) in non-irradiated samples aged at 7 and 15 °C. The irradiation reduced ( $P < 0.05$ ) the mesophilic count in all the treatments, keeping below the maximum acceptable limit ( $10^7$ UFC/g) during the 21 days of aging. The use of higher aging temperatures increased ( $P < 0.05$ ) the formation of volatile compounds related to the deterioration processes (lipid and protein oxidations and microbial development), being higher ( $P < 0.05$ ) in the non-irradiated samples aged at 15 °C. The irradiation had little effect on the volatiles profile, being the dimethyl sulfide the main compound formed and presenting the potential for use as an irradiation marker. Refrigeration temperatures higher than the conventional (1 °C) in the aging process can be used to accelerate the beef tenderization when gamma irradiation (3 kGy) was applied as a microbial development control. The ideal binome temperature/time during aging must still be defined, suggesting applying temperatures of 7 °C in the first 7 days of aging.

**Keywords:** Tenderness. Volatile compounds. Protein and lipid oxidation. Mesophiles.

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE .....</b>	<b>13</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Bovinocultura no Brasil .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2</b>	<b>Maturação convencional e a alta temperatura .....</b>	<b>17</b>
<b>2.2.1</b>	<b>Sistema das calpaínas .....</b>	<b>21</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Catepsinas lisossomais.....</b>	<b>23</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Efeitos da maturação sobre a qualidade da carne bovina .....</b>	<b>25</b>
<b>2.2.3.1</b>	<b>Capacidade de retenção de água (CRA).....</b>	<b>25</b>
<b>2.2.3.2</b>	<b>Coloração.....</b>	<b>26</b>
<b>2.2.3.3</b>	<b>Oxidação proteica .....</b>	<b>30</b>
<b>2.2.3.4</b>	<b>Oxidação lipídica e sabor .....</b>	<b>31</b>
<b>2.3</b>	<b>Irradiação de alimentos.....</b>	<b>33</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Radiólise da água .....</b>	<b>34</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Efeito sobre a qualidade microbiológica .....</b>	<b>35</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Efeitos sobre o sabor e cor da carne.....</b>	<b>39</b>
<b>2.3.4</b>	<b>Efeito sobre a maciez da carne .....</b>	<b>45</b>
<b>3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>49</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>50</b>
	<b>SEGUNDA PARTE - ARTIGOS .....</b>	<b>63</b>
	<b>ARTIGO 1: Aplicação de radiação gama na maturação acelerada da carne de bovinos da raça Nelore .....</b>	<b>64</b>
	<b>ARTIGO 2: Efeito da irradiação gama na oxidação, na multiplicação microbiana e no perfil de compostos voláteis da carne bovina maturada em altas temperaturas .....</b>	<b>99</b>

## **PRIMEIRA PARTE**

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil possuía o maior rebanho bovino do mundo e era o maior exportador de carne bovina em quantidade, mas não em valor, em 2019. O valor pago pela carne brasileira é menor por causa da inconsistência de sua maciez. Entre os atributos de qualidade da carne bovina, a maciez se destaca como um dos principais requisitos utilizados pelos consumidores na decisão de compra. Desse modo, estudos são necessários para melhorar a maciez da carne bovina brasileira, proveniente, principalmente (80%), de animais da raça Nelore (*Bos indicus*), que possuem uma carne menos macia que a do gado europeu (*Bos taurus*). Isso, aumentaria a qualidade da carne bovina brasileira e, logo, o seu valor no mercado mundial.

A maturação é a técnica mais utilizada pela indústria para o amaciamento de carnes. A carne é mantida embalada a vácuo, entre 1 a 4 °C, de 14 a 21 dias nas câmaras frias, para que ocorra a proteólise *post mortem*, afim da carne alcançar a maciez e o sabor desejáveis. Entretanto, esse processo demanda tempo e custos elevados. Assim, pesquisas tem sugerido a elevação da temperatura de maturação (para 10 até 15 °C) para reduzir o seu tempo, por favorecer a ação das enzimas endógenas (calpaína e catepsina). Além de reduzir o tempo, a maturação acelerada também favorece o aumento da maciez, pois a degradação da estrutura muscular é mais intensa.

Entretanto, maturar a carne com a alta temperatura é microbiologicamente inviável, pois a elevação da temperatura favorece o desenvolvimento das bactérias deterioradoras da carne embalada a vácuo. Portanto, a maturação acelerada só pode ser aplicada em conjunto com outros métodos de conservação, afim de manter a vida útil da carne maturada. Entre os métodos de conservação, a irradiação por meio de radiação ionizante, como o  $^{60}\text{Co}$  e o  $^{137}\text{Cs}$ , é segura e eficaz na conservação de carnes e produtos cárneos.

No entanto, a irradiação pode causar alterações desejáveis ou indesejáveis na qualidade da carne, tais como no *flavor*, na cor e na maciez. Isso, pode ocorrer durante o processo de irradiação pela formação de *off-odor* e *off-flavore* pela alteração na cor por radicais livres, formados pela radiólise da molécula de água na carne irradiada. Esses radicais livres interagem com os constituintes do alimento (lipídios, proteínas, aminoácidos, etc.) propagando processos oxidativos, como o de lipídios e proteínas, levando a formação de um *flavor* característico da carne irradiada, definido como de “milho cozido”. Em relação à maciez, há uma controvérsia sobre o efeito da irradiação, pois alguns estudos demonstram o favorecimento da maciez pela

irradiação, em consequência da degradação da estrutura muscular e da solubilização do colágeno. Porém, outros estudos têm demonstrado o desfavorecimento da maciez pela irradiação, em consequência da inativação ou redução da ação das calpaínas, durante a proteólise da estrutura muscular. Desse modo, estudos ainda são necessários para tentar elucidar essa questão.

Por fim, estudos do efeito da elevação da temperatura de maturação, em conjunto com a aplicação da irradiação sobre a qualidade da carne bovina pós rigor ainda são escassos. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do uso de diferentes temperaturas de refrigeração (1, 7 e 15 °C) junto à aplicação pós-rigor de irradiação gama (3 kGy) sobre os atributos tecnológicos e de qualidade, como a maciez e cor, formação de compostos voláteis e desenvolvimento de microrganismos deterioradores durante amaturação de contrafilés (*M. Longissimus lumborum*) bovinos de animais da raça Nelore.

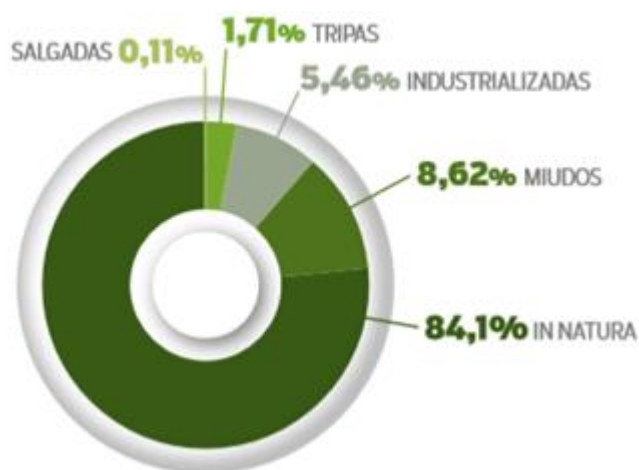


## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Bovinocultura no Brasil

No cenário mundial de produção de carne, o Brasil apresenta uma posição de destaque, sendo, em 2019, dono do maior rebanho bovino do mundo, com cerca de 213,7 milhões de cabeças, seguido da Índia (185,7 milhões de cabeças) e Estados Unidos (94,5 milhões de cabeças). Quanto à carne bovina, o Brasil produziu em torno de 10,5 milhões de Toneladas Equivalente Carcaça (TEC). Quanto à exportação de carnes, no cenário mundial, o Brasil foi o maior exportador de carne bovina em 2019 (2.490,3 MIL TEC, bovino + bubalino), seguido da Austrália e Estados Unidos (1.560,6 e 1.314,1 MIL TEC, respectivamente). Segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (ABIEC, 2020), de janeiro a dezembro de 2019, o Brasil exportou cerca de 1,9 milhão de toneladas de carne bovina (FIGURA 1).

Figura 1 – Exportações de produtos da carne bovina pelo Brasil em 2019.



Fonte: ABIEC (2020).

Os maiores rebanhos brasileiros estão distribuídos nos estados de Mato Grosso (29.873.068 cabeças), Goiás (22.430.742 cabeças) e Minas Gerais (22.321.084 cabeças), sendo que a área de pastagem brasileira se encontra em 162,53 milhões de hectares (ABIEC, 2020). Quanto às raças que compõem o rebanho brasileiro, 80% do gado de corte são Nelores (*Bos*

*indicus*) ou anelorados, sendo reflexo de um trabalho que deu certo, a partir do desenvolvimento de *know-how* tecnológico próprio e ganhos progressivos de excelência em qualidade, ao natural, em plena harmonia com o meio ambiente. Além disso, a boa adaptabilidade do gado Nelore às condições de manejo brasileiro está relacionada à rusticidade e à alta resistência desses animais à temperatura tropical e aos parasitas do país. Hoje, o Nelore brasileiro é considerado um patrimônio nacional legitimado, apresentando uma carne saudável e natural, exportada para mais de 146 países e cada vez mais demandada por consumidores em todo o mundo (ACNB, 2020; BIANCHINI *et al.*, 2007).

## 2.2 Maturação convencional e a alta temperatura

O processo de maturação da carne bovina vem sendo amplamente utilizado pela indústria com o intuito de contornar a inconsistência da maciez da carne bovina, em especial, a de origem zebuína, e obter um produto mais homogêneo e aceitável pelos consumidores (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). O gado Nelore (*Bos indicus*) apresenta menor maciez que o gado taurino (*Bos taurus*), devido a uma maior concentração de calpastatina, inibidor das calpaínas no músculo dos zebuínos, fazendo com que ocorra uma menor degradação da estrutura muscular no *post mortem*. Segundo Bianchini *et al.* (2007), existe uma relação positiva entre a maior porcentagem de genes *Bos indicus*, de origem indiana no animal, e a redução na maciez da carne maturada. Assim sendo, a maturação consiste em manter a carne *in natura* embalada a vácuo, à temperatura de refrigeração (1 a 4 °C), por um período de 7 a 21 dias, tendo como objetivos o aumento da maciez e o desenvolvimento do sabor característico (DIAS, 2016; LEE; SEBRANEK; PARRISH, 1996; WILSON *et al.*, 1960).

O favorecimento da maciez, durante a maturação *post mortem*, é devido à presença de sistemas proteolíticos endógenos da carne como os sistemas de calpaínas e as catepsinas lisossômicas (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006), que contribuem para a degradação das proteínas miofibrilares durante o armazenamento refrigerado (KOOHMARAIE, 1994). No entanto, segundo Barón (2016) e Wang *et al.* (2018), existem mais dois complexos, recentemente estudados, que também contribuem para a proteólise *post mortem*, que são as caspases e o proteossoma associados à apoptose celular.

Segundo Kempet *et al.* (2010), a maciez final da carne depende do grau de alteração na estrutura muscular e nas proteínas associadas, como as proteínas miofibrilares específicas, as do citoesqueleto e as costaméricas, tais como titina, desmina e vinculina, respectivamente, que são submetidas à hidrólise, sendo que a degradação das principais proteínas miofibrilares, tais como actina e miosina também pode ocorrer.

Assim, os fatores que afetam o processo de amaciamento da carne são o potencial proteolítico, a degradação miofibrilar, o pH final da carcaça, o tamanho das fibras e dos feixes, a espécie, a idade do animal, a raça, condições de estresse *ante mortem*, o sexo, o tipo de músculo, o comprimento do sarcômero, força iônica e a quantidade e solubilidade da molécula de colágeno (BARÓN, 2016).

Entretanto, o processo de maturação convencional é demorado, pois dura cerca de 3 semanas e, além disso, demanda espaço refrigerado, custos operacionais e de energia. Assim, o uso de temperaturas mais altas no processo (10 a 15 °C), resultam no aumento da maciez da carne e menor encurtamento muscular, além de reduzir o tempo de maturação. Isso pode ser atribuído à degradação acelerada da estrutura muscular, devido ao aumento da atividade das proteases, como as calpaínas e catepsinas, em altas temperaturas de armazenamento (KIM *et al.*, 2018; YIM *et al.*, 2015).

Kim *et al.* (2018), observaram que a proteólise *post mortem* foi mais intensa nas carnes bovinas maturadas a 14 °C, do que naquelas maturadas a 4 °C. Sendo que, a fragmentação das amostras aumentou com o tempo de maturação. Isto, pode ser atribuído à degradação do disco Z e das fibras intramusculares, à medida que o tempo de maturação *post mortem* aumentou. Segundo Silva (2006), as catepsinas tornam-se mais ativas à altas temperaturas, aumentando, assim, a degradação miofibrilar, durante a maturação acelerada. O mesmo autor relata que quando a carne é maturada a 20 °C ocorre a degradação de actina, o que não ocorre quando a carne é maturada a 4 °C e a  $\alpha$ -actinina é degradada à temperaturas elevadas, superiores a 25 °C.

White *et al.* (2006), relataram que após 2 dias de maturação a banda de 30 kDa (troponina T) foi mais intensa na carne armazenada a 15 °C, quando comparada àquela mantida a 5 °C. Concluindo assim, que a taxa de proteólise foi mais rápida no músculo *Longissimusdorsi* maturado a 15 °C, quando comparado com aqueles maturados a 5 °C. Lee, Sebranek e Parrish (1996), analisaram os efeitos da irradiação (2 kGy) e da embalagem em atmosfera modificada (MAP) na qualidade da carne bovina (músculo *Longissimuslumborum* e *thoracis*)

maturada à alta temperatura (15 e 30 °C) por 1, 2, 3, 7 e 14 dias. Os resultados mostraram que a redução da temperatura de maturação resultou em maiores valores da força de cisalhamento, sendo que a carne maturada a 30 °C, por 2 dias, já apresentou redução nos valores da força de cisalhamento.

Kim *et al.* (2018), avaliaram o efeito de altas temperaturas na maciez da carne bovina pré-rigor (2 horas *post mortem*), e observaram uma redução da força de cisalhamento do *M. semimembranosus* bovino com o decorrer do tempo de maturação (0, 3, 7 e 14 dias), sendo que as amostras maturadas a 14 °C apresentaram uma menor força de cisalhamento que as maturadas a 4 °C. Além disso, os autores disseram que a maturação acelerada pode ser uma técnica eficaz para reduzir o tempo de maturação, pois notaram que os valores da força de cisalhamento das amostras maturadas por 7 dias, a 14 °C, foram semelhantes às amostras maturadas por 14 dias, a 4 °C. Os autores relataram que esse favorecimento da maciez pode ser atribuído à acelerada desnaturação da estrutura muscular e ao aumento da atividade das proteases à altas temperaturas.

Wilson *et al.* (1960), maturaram o músculo *semimembranosus* à temperaturas entre 1 e 4 °C, por 14 dias, e nas temperaturas de 32 °C, 38 °C, 43 °C e 49 °C, por 24 horas. Os autores observaram que as amostras maturadas à alta temperatura apresentaram maior maciez, tanto sensorialmente, quanto pelo método instrumental (*Warner-Bratzlershear force*). O músculo maturado por 14 dias, a 1 °C, apresentou menor maciez que o músculo maturado por 24 horas, a 43 °C. Contrariamente, Sleeth, Henrickson e Brady (1957), avaliaram o efeito de altas temperaturas na maciez da carne bovina maturada por 3 dias, a 14 °C, e maturadas por 14 dias, a 4 °C, constatando que a maciez não variou entre essas amostras.

Por fim, Kilgannon *et al.* (2019) não observaram efeito da temperatura (3, 5 e 7 °C) no comprimento do sarcômero de *M. longissimuslumborum* bovino maturado por 6, 8, 10 e 12 dias. No entanto, os autores relataram que é sabido que temperaturas mais altas de maturação favorecem a atividade das enzimas, melhorando a maciez. Assim, a aplicação de uma variação da temperatura adequada, durante o armazenamento, pode permitir que esses sistemas enzimáticos realizem seus processos em um ritmo mais rápido do que nas amostras armazenadas a 1 °C, por 14 dias.

Apesar da redução no tempo de processo, maturar a carne à altas temperaturas aumenta o risco de contaminação microbiológica, fazendo com que seja praticamente inviável o seu uso no amaciamento de carnes (SLEETH; HENRICKSON; BRADY, 1957). Zhu, Mendonca e Ahn

(2004), relatam que a elevação da temperatura pode promover o crescimento de microrganismos e acelerar mudanças na qualidade da carne, pois a oxidação lipídica pode, também, ser acelerada sob condições de temperatura elevada. Kilgannon *et al.* (2019), avaliaram o efeito da variação da temperatura (3, 5 e 7 °C) durante 6, 8, 10 e 12 dias de armazenamento da carne bovina e relataram que o armazenamento mais longo e em temperaturas mais altas resultou em cargas microbianas maiores. Assim, a utilização de altas temperaturas de maturação da carne deve vir atrelada à utilização de uma técnica de conservação, para que seja possível sua utilização. Assim, alguns estudos (KIM *et al.*, 2018; SLEETH; HENRICKSON; BRADY, 1957; WILSON *et al.*, 1960) tem utilizado a irradiação como forma de controlar a multiplicação bacteriana em carnes maturadas à alta temperatura e, assim, estender a sua vida útil por meio da irradiação de *eletronbeam* e raio X, ultravioleta e irradiação gama atrelada ao uso de antibióticos.

Kim *et al.* (2018), ao trabalharem com uma dose de 5 kGy de irradiação de raio X e *eletronbeam* (feixes de elétrons), observaram uma redução de 1,40 e 2,07 log/UFC/g, respectivamente, enquanto as amostras não irradiadas apresentaram contagens de bactérias aeróbias totais de 4,73 log/UFC/g. E as amostras irradiadas e maturadas por 7 dias, a 14 °C, com ambos os métodos, apresentaram uma contagem menor que 7 log/UFC/g. Mostrando que a irradiação de raio X e *eletronbeam* aumentaram a vida útil das carnes maturadas à alta temperatura, podendo chegar a 7 dias de armazenamento, no caso desse experimento.

Wilson *et al.* (1960) observaram que o uso da irradiação reduziu, superficialmente, a contagem de bactérias aeróbias para menos de 100.000 organismos por grama de amostra, enquanto a contagem de bactérias anaeróbias foi ainda menor. O uso de antibióticos isoladamente forneceu um controle satisfatório durante a maturação, quando usado após a maturação a 43 °C. Os autores relataram que a irradiação gama promoveu um efeito mais satisfatório, quando a temperatura de maturação estava próxima à ótima de multiplicação dos microrganismos. Entretanto, foram utilizadas baixas doses de radiação, o que tornou a redução da contagem de microrganismos irrelevante, sendo assim, necessários estudos com doses um pouco maiores de radiação gama para avaliar esse efeito.

Por fim, a utilização de altas temperaturas têm sido empregada, também, durante o desenvolvimento do *rigor mortis*. Hwanget *al.* (2004), ao trabalharem com os músculos M. *longissimusthoracis* et *lumborum* e M. *semitendinosus* bovino, 30 minutos *post mortem* e mantidos à temperaturas de 5 °C, 15 °C e 36 °C por, 24 horas, durante o tempo de

desenvolvimento do *rigor mortis*, observaram que o aumento da temperatura de maturação acarretou na redução da força de cisalhamento da carne bovina, sendo que a taxa de degradação da Troponina T e a da autólise da  $\mu$ -calpaína foram maiores nas amostras mantidas a 36 °C. Li *et al.* (2012) mantiveram a carne bovina (*longissimuslumborum*), após o abate, a temperaturas de 14 °C, 7 °C, 0 °C e -21 °C por 10 horas *post mortem*. Após esse período, as carnes foram armazenadas a 2 °C por 1, 7, 14 e 21 dias, sendo observado que o tempo de maturação reduziu a força de cisalhamento das amostras, principalmente daquelas mantidas a 14 °C, que se apresentaram mais macias. Segundo Devine, Wahlgren e Tornberg (1999), a temperatura de *rigor* entre 10 e 15 °C favorece a maciez devido à redução do encurtamento do músculo e ao impacto na atividade enzimática.

### 2.2.1 Sistema das calpaínas

As calpaínas são as principais enzimas envolvidas na proteólise *post mortem* e, conseqüentemente, estão relacionadas com a maciez. O sistema das calpaínas pertence à família das proteases não lisossomais, e são cisteínas proteolíticas, sendo encontradas em diferentes tecidos. São ativadas em presença do íon cálcio e sua atividade é regulada pela calpastatina, inibidor específico dessas enzimas (DIAS, 2016; KEMP *et al.*, 2010).

O sistema das calpaínas é composto por várias isoformas dessas enzimas proteolíticas, sendo dividido em dois grupos: calpaínas típicas, que englobam a calpaína 1, calpaína 2, calpaína 3a, calpaína 3b, calpaína 8a, calpaína 9 e calpaínas 11, 12, 13a e 13b; e as calpaínas atípicas, que compreendem a calpaína 5, calpaína 6, calpaína 7, calpaína 8b, calpaína 10a e calpaína 15. As calpaínas típicas caracterizam-se por possuírem os quatro domínios (I-IV), enquanto nas calpaínas atípicas alguns domínios não existem ou foram substituídos por outros diferentes. O sistema é composto também pelo inibidor endógeno das calpaínas, a calpastatina (HUFF-LONERGAN; ZHANG; LONERGAN, 2010; SUZUKI *et al.*, 2004).

As duas isoformas melhor caracterizadas são a  $\mu$ -calpaína ou calpaína tipo I e a m-calpaína ou calpaína tipo II. A calpaína tipo I é ativada quando há queda do pH da carne de 6,8 para 5,7; enquanto a calpaína tipo II é ativada quando o pH reduz e atinge 5,7; sendo a responsável pela continuidade do processo de amaciamento. No entanto, a concentração de

calpastatina determina a taxa de proteólise *post mortem*, pois tem como principal função inibir as calpaínas (BARÓN, 2016; HUFF-LONERGAN; ZHANG; LONERGAN, 2010).

As isoformas das calpaínas requerem a presença de cálcio para serem ativadas e são nomeadas a partir da quantidade de cálcio que cada uma requer para sua ativação. Em geral, a  $\mu$ -calpaína necessita de uma concentração de 5 a 65  $\mu$ M de cálcio para atingir metade da sua atividade máxima, enquanto a m-calpaína requer entre 300 a 1000  $\mu$ M de cálcio para atingir metade da sua atividade máxima. Essas duas enzimas degradam as mesmas proteínas miofibrilares durante a maturação *post mortem*. Entretanto, devido à especificidade limitada da  $\mu$  e m-calpaína, elas não degradam as proteínas de seus aminoácidos constituintes, nem degradam as principais proteínas miofibrilares, como a miosina e a actina (HUFF-LONERGAN; ZHANG; LONERGAN, 2010).

As calpaínas, antes do *post mortem*, encontram-se localizadas em organelas subcelulares, no interior do sarcoplasma e migram para regiões do disco Z e da banda I das miofibrilas durante o *rigor mortis*. A localização das calpaínas na fibra muscular durante o *rigor mortis* está relacionada às proteínas que serão clivadas por ela, de modo que sua atuação ocorre nas proteínas do citoesqueleto (titina e nebulina), dos filamentos intermediários (desmina), das proteínas que ajudam na estabilidade da fibra muscular (troponinas e tropomiosina) e na proteína C do músculo. Assim, a quantificação dessas proteínas está relacionada à maciez da carne, a partir da atuação das calpaínas (BARÓN, 2016; DIAS, 2016; GOLL *et al.*, 2003).

A maciez é favorecida pela ação das proteínas, pois ao atuarem sobre a titina, desmina, nebulina, proteína C, troponina e tropomiosina, ocorre a desestruturação do sarcômero. Já a hidrólise das troponinas e tropomiosina, também favorece a liberação de filamentos finos, devido à perda da estrutura, resultando em monômeros de actina. A proteína C desestabiliza e libera filamentos grossos, resultando em monômeros de miosina. A titina e a nebulina são proteínas que reforçam transversalmente a estrutura miofibrilar e a ação das calpaínas sobre elas ajuda a degradar a estrutura. Finalmente, a degradação da desmina e das linhas Z, que são responsáveis pela união do sarcômero, também afrouxam a estrutura miofibrilar (BARÓN, 2016; WU; CLERENS; FAROUK, 2014).

A calpastatina foi encontrada em todos os tecidos que contém calpaína. Para que ocorra a ligação da calpastatina à calpaína, é necessário a presença do íon cálcio. Entretanto, a quantidade de cálcio requerida para que essa ligação entre as enzimas ocorra é mais baixa que a concentração

necessária para que a m-calpaína e a  $\mu$ -calpaína atinjam a metade da sua atividade máxima, estando ou não na sua forma autolisada (KAPPRELL; GOLL, 1989). Otsuka e Goll (1987) relataram que a concentração de cálcio necessária para a ligação da calpaína à calpastatina foi de 530  $\mu\text{M}$  de  $\text{Ca}^{+2}$ , enquanto foi necessária uma concentração de 920  $\mu\text{M}$  de  $\text{Ca}^{+2}$  para que ocorresse a metade da atividade máxima das calpaínas.

A calpastatina é uma proteína não estruturada, mas quando se liga à calpaína adota uma estrutura que permite a inibição. A calpastatina contém 4 domínios inibitórios, de modo que cada um pode inibir a atividade da calpaína. Dentro destes domínios existem três regiões denominadas de A, B e C, previstas para interagir com a calpaína. A ligação do cálcio à calpaína causa alterações na molécula, permitindo que ela se torne ativa, mas também, permitindo que a calpastatina interaja com a enzima. As hélices da cadeia peptídica, encontradas nas regiões A e C, dentro de um domínio inibitório, interagem com a calpaína em dois locais separados, fazendo com que o domínio inibitório envolva a calpaína. A região entre A e C e a região B bloqueiam o sítio ativo da calpaína. Os estudos de cristalografia sugerem que a região B não se liga diretamente ao sítio ativo, evitando, assim, que se torne um substrato para a enzima (KEMP *et al.*, 2010).

Sabe-se que a calpastatina é degradada no músculo *post-mortem*, e há evidências de que as calpaínas são responsáveis por essa atividade. A taxa de degradação e inativação da calpastatina está relacionada à taxa de proteólise e amaciamento observada na carne. No entanto, os fatores exatos ou conjuntos de condições que regulam a degradação da calpastatina pela calpaína não são conhecidos (HUFF-LONERGAN; ZHANG; LONERGAN, 2010).

Assim, uma observação consistente do envolvimento do sistema de calpaínas com a maciez, é que altos níveis de calpastatina estão associados à carne de menor qualidade, pois altos níveis dessa enzima reduzem a atividade da calpaína, afetando, conseqüentemente, a proteólise necessária para obter uma carne macia. Nas espécies de ruminantes, há relação entre a atividade da calpastatina no músculo 24 horas após o abate e o grau de amaciamento alcançado com a maturação, com diferenças na calpastatina, representando 40% da variação de maciez (KEMP *et al.*, 2010).

### **2.2.2 Catepsinas lisossomais**



O termo “catepsinas”, geralmente, designa peptidases localizadas nos lisossomos, mais ativas em pH ácido e cuja temperatura ótima encontra-se perto dos 37 °C. Essas enzimas são exo- e endo-peptidases, divididas em peptidases de cisteínas, aspárticas e serina. As catepsinas conhecidas no tecido muscular e relevantes para a proteólise *post mortem* incluem as seis cisteínas peptidases (catepsinas B, L, H, S, F e K) e uma aspartil peptidase (catepsina D). A catepsina E, que é outra aspartil peptidase lisossomal, não tem mostrado ser expressiva nas células musculares. No tecido muscular, a catepsina E está localizada dentro dos macrófagos (SENTANDREU; COULIS; OUALI, 2002; SILVA, 2006).

As proteases de cisteína são enzimas da família da papaína, geralmente com 20 a 35 kDa. São proteases monoméricas (exceto a catepsina C, que é tetramérica), com semelhante sequência de aminoácidos. Estas proteases são formadas por dois domínios: domínio L (*Left*), que possui três  $\alpha$ -hélices e domínio R (*Right*), composto por uma folha- $\beta$  (*beta-sheet*). O centro ativo está localizado entre os dois domínios e é composto por dois resíduos de aminoácidos, cisteína 25 no domínio L e histidina 159 no domínio R, formando um par iônico. A catepsina D é uma protease que contém um resíduo de ácido aspártico no seu centro ativo, como a pepsina (LI, 2006).

Catepsinas, quando ativas, representam um alto potencial hidrolítico, já que sua concentração total nas células pode ser maior que 1 mM. A atividade dessas enzimas é controlada por vários fatores, incluindo o pH, potencial redox, extensão da ativação do precursor e os inibidores endógenos específicos (SENTANDREU; COULIS; OUALI, 2002). Dentre os inibidores endógenos específicos das catepsinas, têm-se as cistatinas,  $\alpha_2$ -macroglobulina, leupeptina, antipapaína, ácido iodoacético e pepstatina (SILVA, 2006).

Kempet *al.* (2010) relataram em seu trabalho que estudos (KOOHMARAIE *et al.*, 1991; WHIPPLE *et al.*, 1990) descartaram a contribuição das catepsinas para o amaciamento da carne, com base em várias observações. Primeiramente, não há degradação da actina e miosina em larga escala no período de condicionamento *post mortem*, sendo esses substratos primários para catepsinas. Em segundo lugar, as catepsinas estão localizadas nos lisossomos e, portanto, devem ser liberadas para que tenham acesso às proteínas miofibrilares, a fim de aumentar a maciez da carne.

Segundo Koohmaraie, Schollmeyer e Dutson (1986), Koohmaraie *et al.* (1991) e Mikami *et al.* (1987), as catepsinas B e D hidrolisam as moléculas de actina e miosina enquanto a catepsina

L hidrolisa o maior número de proteínas miofibrilares (troponina T, I e C, nebulina, titina e tropomiosina, actina e miosina) durante a maturação da carne bovina, de frango e de coelho. Além das proteínas miofibrilares, as catepsinas B, L, N e S são capazes de clivar o colágeno nativo insolúvel em fragmentos solúveis. A atividade das catepsinas B e L, 8 horas *post mortem*, foram correlacionadas positivamente com a maciez na carne bovina (O'HALLORAN *et al.*, 1997; RODRIGUES, 2017).

### **2.2.3 Efeitos da maturação sobre a qualidade da carne bovina**

O processo de maturação, seja ele convencional ou em alta temperatura, pode promover alterações nos atributos de qualidade da carne bovina, como a maciez, a coloração, a capacidade de retenção de água (CRA) e o sabor. Essas alterações ocorrem naturalmente, durante o armazenamento *post mortem*, sendo algumas desejadas, como a formação do sabor e o amaciamento da carne, enquanto outras, no entanto, são indesejáveis, como os processos oxidativos das proteínas e lipídeos. O efeito sobre o amaciamento da carne já foi discutido no item 2.2, portanto serão relatados a seguir, os demais efeitos.

#### **2.2.3.1 Capacidade de retenção de água (CRA)**

A maturação pode afetar a capacidade de retenção de água (CRA) da carne, uma vez que, ela tende a aumentar à medida que se passa o tempo de maturação. A melhoria da CRA, durante a maturação, tem sido atribuída à degradação de proteínas citoesqueléticas (desmina, vinculina, sinemina e talina) que promovem ligações costaméricas entre miofibrilas e entre estas e o sarcolema. A degradação dessas ligações leva a uma menor redução do diâmetro da fibra *post mortem*, permitindo uma maior disponibilidade de espaço para acomodação das moléculas de água intracelular, diminuindo, assim, a exsudação do músculo (AROEIRA, 2014). Segundo Kim *et al.* (2017), mudanças bioquímicas *post mortem*, incluindo proteólise e oxidação de proteínas, podem afetar a degradação de proteínas miofibrilares, que estão associadas com a CRA e a maciez da carne.

Boakye e Mittal (1993) relataram um aumento na CRA da carne bovina maturada por 12 dias, a 2 °C. Huff-Lonergan, Zhang e Lonergan (2010) disseram que a degradação *post mortem* da

desmina está relacionada com amostras de baixa força de cisalhamento e maior capacidade de retenção de água. Farouket *et al.* (2010) observaram um aumento da capacidade de retenção de água do *M. semimembranosus* bovino, maturado por 6 semanas. Os autores concluíram que a degradação da estrutura da carne com a maturação resultaria na interrupção da formação dos canais de gotejamento.

Entretanto, a elevação da temperatura de maturação pode resultar em maior perda de água do músculo, podendo ser atribuída à menor viscosidade do exsudado, que resulta em uma maior taxa de migração do gotejamento pelos canais dentro e entre os músculos. Ou, também, a desnaturação das proteínas, resultante do baixo pH, em combinação com a elevação da temperatura (CHOE; STUART; KIM, 2016; GEESINK; BEKHIT; BICKERSTAFFE, 2000; HERTOOG-MEISCHKE; SMULDERS; LOGTESTIJN, 1998; LEE *et al.*, 1985).

Choe, Stuart e Kim (2016) relataram que os lombos de cordeiro maturados à elevada temperatura (7 °C) apresentaram maior purga e maior perda por gotejamento, que os maturados a -1,5 °C. Geesink, Bekhit e Bickerstaffe (2000) avaliaram o efeito da temperatura (5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C) sobre a perda por gotejamento da carne de cordeiro, embalada a vácuo e armazenada por 1 e 14 dias *post mortem*. Os autores observaram um aumento na perda por gotejamento nas amostras armazenadas a 25, 30 e 35 °C.

### 2.2.3.2 Coloração

O processo de maturação da carne pode afetar sua coloração, onde as carnes, de forma geral, apresentam com maiores valores de  $L^*$  (índice de luminosidade) com o decorrer do tempo de maturação (BOAKYE; MITTAL, 1996; BRUCE; STARK; BEILKEN, 2004; VITALE *et al.*, 2014). Vitale *et al.* (2014) relatam que as diferenças observadas nos valores iniciais de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , entre a carne maturada e não maturada, podem ser explicadas pela maior capacidade de *blooming* dos bifes maturados a vácuo. O *blooming* da carne depende da disponibilidade de oxigênio, da difusão de oxigênio na carne e da taxa de consumo de oxigênio (TCO). Assim, a diferença na capacidade de *blooming* entre a carne fresca (não maturada) e a carne maturada, é devido à possível perda da atividade das enzimas que utilizam o oxigênio durante o armazenamento a vácuo. Segundo Houet *et al.* (2014), a coloração da carne é dependente de dois

fatores que são a TCO e a habilidade de redução da metamioglobina (MMb) da carne, sendo que esses fatores afetam a formação de MMb, que é característica no processo de maturação.

Aroeira (2014) observou um aumento inicial na proporção de oximioglobina ( $O_2Mb$ ) no processo de maturação, que pode ser justificado por uma redução TCO. No tempo zero, a carne recém abatida (24 horas *post mortem*) apresenta uma grande TCO, o que resulta em uma menor penetração do oxigênio no interior da carne, fazendo com que a  $O_2Mb$  seja formada em uma pequena profundidade. Com o tempo de maturação *post mortem*, a TCO diminui, devido ao esgotamento de substratos e coenzimas e pela degradação das enzimas envolvidas na respiração mitocondrial, favorecendo a penetração de oxigênio e justificando a maior formação da  $O_2Mb$  nas amostras a partir do 7º dia de estocagem. Assim, maiores valores de  $L^*$  observados com o período de maturação estão associados à redução na atividade respiratória mitocondrial, o que confere uma maior oxigenação da molécula de mioglobina, formando maiores proporções de  $O_2Mb$ . O aumento da concentração de  $O_2Mb$  na carne bovina maturada foi visto por Aroeira *et al.* (2017), Rodrigues *et al.* (2020) e Sales *et al.* (2020).

Arelado ao aumento da  $O_2Mb$ , com a maturação, está a redução da concentração de deoximioglobina (DMb). Segundo Mancini e Ramanathan (2014) e Suman e Joseph (2013), o consumo de oxigênio pelas mitocôndrias minimiza o desenvolvimento da coloração vermelhocereja brilhante, característico da  $O_2Mb$ , porque a respiração mitocondrial mantém a mioglobina no estado deoxi (DMb), limitando a formação de  $O_2Mb$ , devido à redução da pressão parcial de oxigênio pela respiração das mitocôndrias. E por elas interagirem com a  $O_2Mb$ , resulta na transferência do oxigênio ligado ao ferro-heme da  $O_2Mb$  para as mitocôndrias. Ambas as funções celulares promovem a formação de DMb, resultando em uma cor mais escura (vermelho púrpura) da carne embalada a vácuo. Entretanto, a maturação reduz a atividade das mitocôndrias, ocorrendo, assim, o aumento na concentração de  $O_2Mb$  e redução da DMb, na carne maturada. Wyrwiszet *al.* (2016) e Beriainet *al.* (2009) observaram, em seus estudos, a redução da DMb e o aumento da  $O_2Mb$  na carne bovina (*M. semimembranosus* e *Longissimusdorsi*, respectivamente) maturada, após o *blooming*.

Durante o armazenamento prolongado ou a maturação, a capacidade de redução do tecido muscular muda. A carne fresca tem uma capacidade natural de redução da metamioglobina, conhecida como atividade redutora da metamioglobina (MRA), devido a redutores endógenos como NADH, vários sistemas enzimáticos e substratos que diminuem a formação de

metamioglobina. A maturação, devido ao consumo e inativação de sistemas redutores, pelo acúmulo de subprodutos metabólicos, pode ter efeitos significativos na cor da carne bovina (BREWER, 2004). Kim, Frandsen e Rosenvold (2011) sugeriram que a MRA é o fator intrínseco mais importante, que influencia a estabilidade da cor da carne. Sendo que, os autores atribuíram à redução da coloração vermelha, do lombo de cordeiro, a possível perda/oxidação do NADH, durante o longo período de armazenamento a vácuo (9 semanas).

Assim, a carne maturada apresenta uma coloração mais brilhante, devido ao pigmento de O<sub>2</sub>Mb. Entretanto, a estabilidade da cor da carne maturada é menor quando comparada à carne fresca. Segundo alguns estudos (BERIAIN *et al.*, 2009; KIM; FRANSEN; ROSENVOLD, 2011; MACDOUGALL, 1982; VITALE *et al.*, 2014), a rápida deterioração da cor da carne maturada pode ser atribuída à perda da MRA, que está presente no músculo esquelético, nos microssomas e nas mitocôndrias e utiliza, como co-fator, o NADH. A perda da atividade redutora da carne, durante a maturação, pode estar atribuída à uma combinação de fatores como: a queda do pH muscular, perda de substratos e co-fatores (NADH e NADPH) e, finalmente, perda da integridade e funcionalidade da estrutura mitocondrial.

Outro fator que afeta a estabilidade da cor da carne é a respiração mitocondrial, que está relacionada com a redução da MMb, pois o consumo de oxigênio pelas mitocôndrias promove um ambiente anaeróbico que favorece a redução da MMb. Essa redução da MMb pelas mitocôndrias ocorre através da transferência de elétrons disponíveis para MMb pelo citocromo. Além disso, substratos mitocondriais, como succinato e malato, também podem aumentar a redução de MMb, sugerindo o uso potencial desses compostos para melhorar a estabilidade da cor da carne (SUMAN; JOSEPH, 2013).

Mancini e Ramanathan (2014) relataram que a atividade mitocondrial do músculo *Longissimuslumborum* bovino diminuiu com o tempo de armazenamento (até 45 dias), especialmente, os maiores tempos. Como resultado, o aumento do armazenamento melhorou a intensidade inicial da cor da carne, por minimizar a competição da mioglobina com a mitocôndria pelo oxigênio. Entretanto, ocorreu o aumento da concentração de metamioglobina, reduzindo a estabilidade da cor da carne com o aumento do tempo de maturação. Rodrigues *et al.* (2020), também, reportaram um acúmulo de MMb na carne bovina (*M. Longissimuslumborum*), maturada por 14 dias. No entanto, os autores não observaram o efeito do tempo de maturação sobre a MRA.

MacDougall (1982) reportou que a carne maturada apresenta, logo após o *blooming*, uma coloração mais clara (brilhante), devido à maior dispersão de luz e a penetração mais profunda de oxigênio. No entanto, a perda da MRA durante a maturação apresenta uma menor estabilidade da cor. Sendo que, a maior luminosidade pode estar relacionada com alterações causadas nas proteínas musculares, pois Wyrwizet *et al.* (2016) reportaram que o aumento na luminosidade ( $L^*$ ) da carne, após o 14º dia de maturação, pode estar relacionado à degradação das proteínas, que levam ao enfraquecimento da estrutura miofibrilar, que resulta na maior dispersão de luz, que conseqüentemente, aumenta a luminosidade ( $L^*$ ).

Vitale *et al.* (2014) maturou a carne bovina por 0, 3, 6, 8, 14 e 21 dias, a 2 °C, e após cada tempo de maturação, as amostras foram retiradas da embalagem e expostas ao varejo por 0, 3 e 6 dias. A diferença na estabilidade da cor da carne bovina, que foi maturada por um curto tempo da que foi maturada por longo período, foi evidenciada pelas variações do *Chroma* ( $C^*$ ), durante a exibição no varejo. Uma vez que, a redução do  $C^*$  foi relacionada ao aparecimento da cor marrom na carne. A variação do  $C^*$  de 3 a 9 dias de armazenamento indica um maior acúmulo de MMb, para tempos de maturação mais longos, durante a exibição no varejo. Durante o armazenamento da carne, a redução dos valores de  $C^*$  é uma medida de variação na intensidade da cor, e o aumento do ângulo *hue* ( $h^*$ ) indica o grau de mudança do vermelho para o amarelado, que foi numericamente maior para os tempos de maturação mais longos em comparação com a maturação mais curta ou a carne não maturada. Sendo que, maiores valores de  $h^*$  indicam descoloração da carne bovina. Kim *et al.* (2018) avaliaram o efeito de altas temperaturas (14 °C) na maturação da carne, e não observou o efeito da elevação da temperatura na coloração da carne bovina. No estudo, os autores relataram somente o efeito da irradiação (*electronbeam* e raio X) com o tempo de maturação.

Por fim, a CRA é um fator que pode estar relacionado com a coloração da carne maturada. Kim, Frandsen e Rosenvold (2011) atribuíram os maiores valores de  $L^*$ , com a maturação, devido ao aumento da CRA com o processo. Portanto, mais água livre dentro da carne maturada pode afetar o aumento do coeficiente de dispersão de luz da carne, resultando em uma cor mais clara da superfície, justificando a palidez da carne maturada. Colle *et al.* (2016), em seu estudo, reportaram que a maior porcentagem de purga da carne (músculo *Semimembranosus*) pode estar relacionada à sua maior palidez. Colle *et al.* (2015) relataram um efeito da purga sobre a coloração da carne, pois a purga contém mioglobina, juntamente com outros nutrientes solúveis

em água. Assim, o aumento da purga, associado à perda da mioglobina, durante o tempo de armazenamento, desempenharam um papel na redução dos valores  $a^*$ , durante períodos mais longos de maturação.

### 2.2.3.3 Oxidação proteica

A oxidação das proteínas miofibrilares pode ocorrer durante a maturação da carne, em especial, aquelas proteínas que contêm aminoácidos que são muito suscetíveis à oxidação, dentre eles têm-se: cisteína, histidina, metionina, lisina e triptofano. O processo de oxidação resulta na conversão de alguns resíduos de aminoácidos, como a histidina, a derivados carbonila, além da formação de ligações dissulfeto cruzadas intra e/ou inter-proteína. De forma geral, essas duas alterações reduzem a funcionalidade das proteínas. Assim, reações oxidativas envolvendo as cadeias laterais de aminoácidos podem levar à formação de grupos carbonilas. Essa conversão pode resultar na perda da atividade catalítica e aumento da suscetibilidade à degradação, ou agregação de proteínas, além, da perda de solubilidade. A formação de carbonilas na carne pode ser causada por vários tratamentos oxidativos e a maturação *post mortem* (HUFF-LONERGAN; ZHANG; LONERGAN, 2010; ROWE *et al.*, 2004b).

As enzimas calpaínas (m-calpaína e  $\mu$ -calpaína) são susceptíveis à oxidação, por conterem tanto histidina, como resíduos sulfurados de cisteína, em seus sítios ativos. Portanto, as condições oxidantes no músculo *post mortem* levam à inativação ou modificação da atividade das calpaínas. De fato, evidências sugerem que condições oxidantes inibem a proteólise pela  $\mu$ -calpaína, mas podem não inibir completamente sua autólise. A ocorrência dos processos oxidativos podem variar de acordo com o músculo durante o *post mortem* (HUFF-LONERGAN; ZHANG; LONERGAN, 2010).

Rowe *et al.* (2004a) relatou que a inativação da  $\mu$ -calpaína, por oxidação, durante os primeiros dias *post mortem*, reduziu a proteólise das proteínas miofibrilar, diminuindo assim, a maciez da carne bovina. Rowe *et al.* (2004b) observou que o aumento da oxidação das proteínas sarcoplasmática e miofibrilar, durante o *post mortem*, do tecido está associado a maiores valores de força de cisalhamento. É possível que a agregação e a desnaturação das proteínas miofibrilares e/ou a inativação de algumas enzimas proteolíticas comprometam a capacidade de amaciamento da carne durante a maturação. E os autores relatam que a oxidação de uma das mais abundantes

proteínas miofibrilares, a miosina, pode causar a formação de agregados grandes e insolúveis, que podem ser mais resistentes à degradação.

Kilgannon *et al.* (2019) observaram que a solubilidade das proteínas sarcoplasmáticas reduziu com o tempo de maturação. A redução na solubilidade dessas proteínas pode ser atribuída à perda por gotejamento durante a maturação, pois existe uma proporção significativa de proteína sarcoplasmática no espaço intra-miofibrilar, que contribui para a perda por gotejamento. E os autores, também propuseram que as amostras maturadas à alta temperatura apresentaram uma maior solubilidade das proteínas sarcoplasmáticas que a maturada a 1 °C. No entanto, a solubilidade das proteínas miofibrilares não foi afetada.

Ha *et al.* (2019) retrataram um aumento na formação de grupos carbonilas com o tempo de armazenamento (7, 21, 35 e 56 dias). Zainudin *et al.* (2019) relataram que a carne bovina armazenada por 9 dias, a 4 °C, apresentou maior concentração de grupos carbonilas que a armazenada a 0 dias. No entanto, os autores armazenaram a carne em embalagens com alta concentração de oxigênio (80% de O<sub>2</sub> e 20% de CO<sub>2</sub>). Salim *et al.* (2019) observaram que a carne bovina (músculo *longissimuslumborum*) exibiu um aumento na oxidação de proteínas a partir do 5º dia de armazenamento, em embalagem permeável ao oxigênio. Canto *et al.* (2016) documentaram um aumento da oxidação proteica da carne bovina (músculos *longissimuslumborum* e *psaos major*) durante 9 dias de armazenamento, à 4 °C, em embalagem permeável ao oxigênio.

#### **2.2.3.4 Oxidação lipídica e sabor**

O dano oxidativo é o principal fator não microbiano que causa a deterioração da qualidade de carnes. A oxidação pode levar a conversão da mioglobina à metamioglobina e o desenvolvimento de odores e sabores rançosos, devido à degradação de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) nas membranas dos tecidos. A suscetibilidade da carne às reações oxidativas é, principalmente, atribuída às suas altas concentrações de pró-oxidantes e lipídios insaturados. A oxidação lipídica é uma importante reação de deterioração e está, positivamente, correlacionada com a oxidação do pigmento. Como por exemplo, os produtos secundários da oxidação lipídica (aldeídos, cetonas, dentre outros) podem acelerar a oxidação da oximioglobina. Entretanto, o efeito da maturação sobre a oxidação lipídica é controverso (JIANG *et al.*, 2010).



Vitale *et al.* (2014) relataram que os valores iniciais de TBARS não diferiram entre os tempos de maturação (0, 3, 6, 8, 14 e 21 dias), no entanto, o aumento da oxidação lipídica, ao longo do tempo, foi maior por períodos mais longos do que os mais curtos, particularmente para os 21 dias. Colle *et al.* (2015) observaram um aumento nos valores de TBARS com o período de maturação (2, 14, 21, 42 e 63 dias) nos dois músculos avaliados, *Gluteusmedius* e *Longissimuslumborum*.

O processo de maturação *post mortem* é um processo importante no qual muitos componentes do *flavor* são formados e as proteínas são hidrolisadas, o que resulta em aumento da maciez durante a maturação da carne. No entanto, as carnes maturadas a vácuo tendem a ter um *flavor* que remete a sangue (WEN, 2013).

Alterações significativas em vários constituintes químicos como açúcares, ácidos orgânicos, peptídeos, aminoácidos livres e nucleotídeos de adenina são observadas durante a maturação da carne. A oxidação lipídica, as reações de *Maillard* e *Strecker* são consideradas potencialmente responsáveis pelos compostos de *flavor* que ocorrem na carne. A formação de peptídeos durante o processo *post mortem* leva ao desenvolvimento de precursores do *flavor*. E a concentração desses precursores aumenta durante a maturação, que reagem com outros produtos de degradação para a formação de voláteis responsáveis pelo aroma da carne. Os aminoácidos livres e os precursores do *flavor* da carne bovina aumentam devido ao maior grau de proteólise, com maior tempo de maturação, que são responsáveis pelo gosto de umami e “manteiga frita” (*butterfried*) da carne maturada (KHAN; JO; TARIQ, 2015).

Embora apenas uma pequena proporção dos ácidos graxos nos alimentos seja oxidada, pode ser o suficiente para alterar, significativamente, o *flavor*. Aldeídos e cetonas são as principais substâncias aromáticas derivadas da oxidação lipídica. No entanto, os hidrocarbonetos (alcanos e alcenos) e álcoois, principalmente o álcool vinílico, também desempenham um papel no *flavor*. Outros aromas fortes derivados da oxidação térmica dos lipídios advém das lactonas:  $\gamma$ -heptalactona [4,5-dihidro-5-propil-2(3H)-furanone] e  $\gamma$ -octalactona [4,5-dihidro-5-butil-2(3H)-furanone] (RESCONI; ESCUDERO; CAMPO, 2013). Segundo Wen (2013), os aldeídos, como hexanal e malonaldeído, são os principais produtos secundários da oxidação lipídica de hidroperóxidos resultantes de ácido graxo poli-insaturado, como o ácido linoleico, que são responsáveis pelo *off-flavor* e odores desagradáveis da carne.

Segundo Colle *et al.* (2015), a oxidação lipídica pode afetar o *flavor* do produto. Sendo que, a literatura preconiza um limiar de 1,0 a 2,3 mg MDA/kg de carne de TBARS, para que o *off-flavor* seja perceptível na carne bovina, embora exista uma ampla gama de limiares relatados para os valores de TBARS. Os mesmos autores observaram em seu estudo, que a carne bovina (*Gluteusmedius* e *Longissimuslumborum*) maturada (até 63 dias) e exposta 4 dias no varejo, tiveram menos de 1 mg de MDA/kg. Assim, grandes alterações no *flavor* devido à oxidação lipídica não foram detectadas, independentemente do período de maturação.

Por fim, a reação de *Maillardé* uma reação redox entre um grupo amino de um aminoácido e um carboidrato redutor. Dentre alguns compostos formados na reação de *Maillard*, têm-se: furanones, pirroles,  $\alpha$ -dicarbonils, oxazolinias, dentre outros, que são responsáveis pelo aroma da carne. Os compostos contendo enxofre são importantes para o sabor. Os aminoácidos que contém o enxofre, especialmente cisteína, estão entre os mais importantes compostos formados na reação de *Maillard*, estando relacionados com o sabor da carne, embora outros aminoácidos também sejam importantes. Glicina e valina, por exemplo, favorecem a formação de pirazinas, enquanto leucina e isoleucina favorecem a formação de furfural. O conteúdo de peptídeos e aminoácidos livres aumenta durante a maturação devido à degradação proteolítica (AASLYNG; MEINERT, 2017).

Quanto à reação de *Strecker*, ela é frequentemente percebida como uma reação dentro da reação de *Maillard*. A reação de *Strecker* envolve a desaminação oxidativa e descarboxilação de um  $\alpha$ -aminoácido, na presença de um composto  $\alpha$ -dicarbonila. Os produtos são uma  $\alpha$ -aminocetona e um aldeído de *Strecker*, que contém um carbono a menos do que o correspondente aminoácido. Como exemplo, tem-se a degradação da cisteína, que é particularmente importante por gerar compostos relacionados ao *flavor*. Sendo que, a degradação da cisteína leva à formação de mercaptoiminoenol, mercaptoacetaldeído e uma aminocetona. Além desses compostos, o sulfeto de hidrogênio, amônia, acetaldeído e dicarbonil regenerado podem ser formados. Outro aminoácido que contendo enxofre, a metionina, através da reação de *Strecker* produz o metional, que tem um baixo limiar de odor e é importante no aroma da carne cozida (RESCONI; ESCUDERO; CAMPO, 2013).

### **2.3 Irradiação de alimentos**

A irradiação de alimentos está sendo considerada uma ferramenta importante, não apenas para garantir a segurança, mas também, para prolongar a vida útil de alimentos, como a carne fresca (YOON, 2003). A irradiação consiste na exposição dos alimentos a uma fonte de radiação ionizante, emitida por uma substância radioativa ou gerada por aceleradores de alta energia (DIKEMAN; DEVINE, 2014). Dentre as radiações ionizantes existentes, têm-se as partículas carregadas de alta energia, tais como elétrons ou fótons de elevada energia, raios X e raios gama (MARIANO, 2004).

O espectro de energia radiante pode ser dividido em ionizante e não ionizante, conforme ele ioniza ou não ioniza os átomos da matéria exposta à ela. Tanto a radiação ionizante, quanto a não ionizante, podem ser prejudiciais aos organismos. Em geral, a radiação ionizante é muito mais prejudicial aos organismos vivos por ter maior unidade de energia depositada do que a radiação não ionizante, mesmo em baixas doses de radiação. A radiação de interesse na preservação do alimento é a radiação ionizante, também conhecida como irradiação (DIKEMAN; DEVINE, 2014).

Dentre as radiações ionizantes utilizadas em alimentos, têm-se: os raios gama. Esse tipo de radiação não ioniza os átomos diretamente, mas transferem a energia para outras partículas atômicas que interagem com outros materiais para formar íons. Os raios gama são eficientes na destruição de microrganismos, por possuírem alto conteúdo de energia e grande poder de penetração e letalidade, pois eles atuam a nível celular. Eles são gerados por isótopos radioativos, como o  $^{60}\text{Co}$  e  $^{137}\text{Cs}$  (HENRY, 2009; PASSOS, 2009).

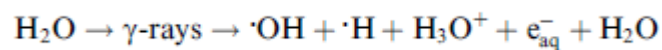
A irradiação é o melhor tratamento para controle bacteriano em carnes frescas, no entanto, gera radicais livres que podem induzir a oxidação lipídica (SOUZA; ARTHUR; CANNIATTI-BRAZACA, 2007), alterações na cor e aroma da carne. Esses radicais livres são oriundos de fontes de alta energia (raios-X, raios gama, elétrons acelerados), como as ionizantes, elas podem retirar um elétron de um átomo, criando íons ou radicais livres (HENRY, 2009). As alterações causadas pela irradiação na qualidade da carne bovina serão discutidas a seguir.

### **2.3.1 Radiólise da água**

A água é alvo de elétrons altamente energizados e a radiólise da molécula de água pode gerar uma variedade de espécies reativas. Os raios gama ( $\gamma$ -raios) podem dividir as moléculas de

água em radicais livres e íons (FIGURA 2). A energia de ativação é necessária para produzir os radicais livres ( $O_2^-$ ,  $\bullet OH$ , etc.). As ligações duplas, carbono-carbono, deficientes de elétrons dos ácidos graxos insaturados e dos grupos carbonilas (ácidos graxos e aminoácidos) são particularmente suscetíveis ao ataque desses radicais livres. Os agentes oxidantes fortes ( $\bullet OH$ ), que são muito reativos com os sistemas conjugados e os elétrons aquosos livres ( $e^-_{aq}$ ), que também são produzidos pela radiólise da molécula água. Elétrons aquosos são muito reativos com compostos aromáticos, ácidos carboxílicos, cetonas, aldeídos, tióis e o hidrogênio livre ( $\bullet H$ ) pode ser adicionado a sistemas conjugados ou ao hidrogênio abstrato, a partir de ligações C-H e S-H (BREWER, 2009).

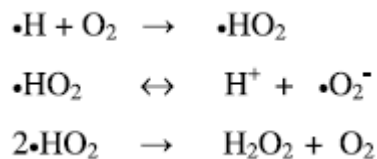
Figura 2 -Radiólise da molécula de água.



Fonte: Brewer (2004).

Além dos radicais livres e íons formados, Brewer (2009) relata que interações dos radicais livres, gerados pela radiólise da água, podem aumentar a formação de peróxido de hidrogênio (FIGURA 3). Átomos de hidrogênio formados, radioliticamente a partir da água, podem reagir com o  $O_2$  dissolvido para formar radicais hidroperóxidos, que se equilibram com os radicais superóxido ( $\bullet O_2^-$ ). Os radicais hidroperóxidos podem então dar origem ao peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ).

Figura 3 - Formação do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ).



Fonte: Brewer (2009).

### 2.3.2 Efeito sobre a qualidade microbiológica

A irradiação de alimentos é utilizada para vários fins, incluindo o controle microbiológico, controle de insetos e inibição de brotação e atraso da senescência de alguns alimentos. Quanto à carne, os objetivos da irradiação são: 1) Eliminação de microrganismos inativos e patógenos presentes na carne fresca ou congelada; 2) Prolongar a vida útil das carnes frescas, reduzindo a sua população microbiana, principalmente, as formas vegetativas de bactérias, que são a causa da sua deterioração (SEDEH *et al.*, 2007).

Os efeitos da radiação ionizante nos organismos vivos dependem da dose total absorvida, da taxa de absorção e das condições ambientais (temperatura, atmosfera gasosa, etc.) durante a irradiação. A dose necessária para tornar os alimentos microbiologicamente "seguros" depende do patógeno, do grau de redução desejado e do tipo de alimento a ser tratado. Os microrganismos deterioradores de alimentos são geralmente muito suscetíveis à irradiação; uma redução de 90% da maioria das células vegetativas pode ser obtida com 1,0–1,5 kGy (BREWER, 2009).

Quanto aos microrganismos encontrados nas carnes embaladas a vácuo, pode haver o crescimento de bactérias psicotróficas aeróbias e anaeróbias que podem causar diferentes tipos de deterioração, dentre elas, têm-se: *Enterobacteriaceae*, *Brochothrixthermosphacta* e *Shewanellaputrefaciens*. Tipicamente, as bactérias mesofílicas são aquelas que dominam a microbiota inicial de carne embalada a vácuo, enquanto as condições de armazenamento, geralmente, favorecem o crescimento de bactérias do ácido láctico (BAL) neste tipo de produto, dentre elas, pode-se citar: os *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc*spp., *Carnobacterium*spp. e *B. thermosphacta*. A deterioração também pode ser causada por *Clostridium* spp. (*C. estertheticum*, *C. laramiense*, *C. frigidicarnis*, *C. gasigenes* e *C. algidixylanolyticum*), que são capazes de crescerem em temperaturas de refrigeração. Pode-se encontrar, também, bactérias dos gêneros *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia* e *Rahnella* (HERNÁNDEZ-MACEDO; BARANCELLI; CONTRERAS-CASTILLO, 2011).

As bactérias do ácido láctico (BAL) fermentam a glicose e outros substratos presentes na carne e quando os substratos esgotam, o crescimento das BALs é cessado. Quando as BALs produzem o gás sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S), a partir da cisteína, são formados odor e coloração desagradáveis. O H<sub>2</sub>S interage com o pigmento de mioglobina, deixando a carne com uma coloração esverdeada. As BALsheterofermentativas produzem, além do ácido láctico, o CO<sub>2</sub>, causando o acúmulo de gás e líquido na embalagem. Quanto à deterioração causada por psicotróficos e o *Clostridium*psicrofílico, ela está associada com a proteólise, perda de textura,

acúmulo de líquido em embalagens e um cheiro desagradável, principalmente do gás sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ). A deterioração da carne embalada a vácuo, causada por bactérias *Enterobacteriaceae*, é frequentemente caracterizada por odores desagradáveis e/ou esverdeamento da carne, em vez da produção de gás (BRIGHTWELL *et al.*, 2007; HERNÁNDEZ-MACEDO; BARANCELLI; CONTRERAS-CASTILLO, 2011).

Assim, a irradiação ionizante pode atuar inativando os microrganismos de forma direta ou indireta, sendo que o ácido desoxirribonucléico (DNA), presente nos cromossomos, é o alvo crítico da radiação ionizante. A forma direta de atuação da radiação ionizante é quando ocorre a absorção da energia da radiação pelas moléculas alvo (microrganismos), ou quando a radiação gama colide com uma parte sensível das células dos microrganismos, ionizando ou excitando o DNA, o que causa sua destruição. Já a forma indireta, é quando ocorre a interação dos radicais livres ( $OH\cdot$ ,  $H\cdot$  e  $e_{aq}^-$ ), produzidos pela radiólise da molécula de água, com os microrganismos. O radical hidroxila ( $OH\cdot$ ) é capaz de interagir com o esqueleto açúcar-fosfato da molécula de DNA, liberando átomos de hidrogênio do açúcar, causando assim, a ruptura das ligações éster de fosfato e, subsequentemente, quebra da fita simples do DNA. Quebras da fita dupla ocorrem quando duas quebras de fita simples ocorrem, em cada cadeia da dupla hélice à uma distância próxima. As bases também são atacadas pelos radicais livres. Gerados pela radiólise, mas não está claro se isso é relevante para a morte celular (MAÑAS; PAGÁN, 2005; MARIANO, 2004). A irradiação gera peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que é um agente antimicrobiano eficaz, que junto aos radicais livres causa danos nas paredes das células bacterianas e no DNA, podendo causar o mau funcionamento dos microrganismos (KIM *et al.*, 2018).

A quebra da fita do DNA ocorre, principalmente, devido à ação indireta na molécula da desoxirribose da estrutura fosfato-açúcar. Aproximadamente 20% das reações do radical  $\cdot OH$  com o DNA causam a retirada de átomos de H de qualquer um dos 5 átomos de C da molécula de desoxirribose, e a subsequente  $\beta$ -eliminação leva à quebra na cadeia polinucleotídica proveniente, geralmente, do corte na ligação éster fosfato 3'C. Como consequência, a maioria das fitas com esse corte apresenta na extremidade grupamento 5'- $PO_4$  e 3'- $PO_4$ , na proporção de 3:1. Quanto à quebra da fita dupla, ela pode ocorrer em sítios opostos ou próximos, de maneira que a ligação de H entre os dois sítios seja incapaz de manter a estrutura da molécula (quebra dupla - dsb). O radical  $\cdot OH$  pode também reagir com as bases. Sendo que, a timina é a mais sensível das bases, seguida pela citosina, adenina e guanina. Diversos produtos são formados nessa reação, mas o

principal, é formado pelo ataque do radical  $\bullet\text{OH}^-$  à dupla ligação 5,6; formando lesões do tipo 5,6-di-hidroxi-5,6-di-hidrotimina (LANDGRAF, 2002).

Kim *et al.* (2008) trabalharam com carne de porco irradiada (5 e 10 kGy) e observaram que a irradiação com 5 kGy reduziu as contagens totais e *E. coli* abaixo do limite de detecção (2 log UFC/g). As contagens microbianas da carne de porco irradiada foram efetivamente inibidas por meio de armazenamento refrigerado por 1 semana, embora as da carne de porco não irradiada tenham aumentado significativamente.

Miyaguskuet *al.* (2003) observaram uma redução significativa da contagem de mesófilos aeróbico, bactérias lácticas e psicotróficas em peitos de frango irradiados com doses de 1,5, 3,0 e 7,0 kGy. As bactérias mesófilas aeróbicas apresentaram uma contagem inicial de 3,7 log UFC/g, que aumentou para 7,6 log UFC/g nas amostras controle, no oitavo dia de armazenamento. Já as amostras irradiadas (1,5, 3,0 e 7,0 kGy) reduziram a contagem bacteriana 2,6 a 3,2 ciclos logarítmicos, comparativamente, com as amostras controle, no quinto dia de armazenamento. As bactérias lácticas foram as mais resistentes à irradiação, sendo que as amostras controle apresentaram uma contagem de 6 log UFC/g no oitavo dia de armazenamento, enquanto que as amostras irradiadas com 1,5 e 3,0 kGy obtiveram resultados similares apenas no 22º dia de armazenamento e, as amostras submetidas a 7 kGy não atingiram essa contagem até o final do período de armazenamento. Já as psicotróficas, apenas as amostras irradiadas com 1,5 e 3,0 kGy atingiram níveis próximos das amostras controle no 15º e 22º dias de armazenamento, respectivamente, com contagens próximas a 7 log UFC/g, apresentando limosidade e odor desagradável.

Entretanto, o efeito da taxa de dose de radiação sobre os microrganismos é controverso. Foi hipotetizado, que uma alta taxa de dose à recombinação dos radicais livres formados, durante a irradiação, e esses interagem, prioritariamente, com os componentes alimentares, como ocorre em baixas taxas de dose. Isso pode aumentar as chances de sobrevivência microbiana, devido à depleção mais rápida dos radicais tóxicos (radicais livres) no meio ambiente. E também, tem sido postulado que altas taxas de dose de irradiação podem resultar em um ambiente anóxico, resultando em baixos radicais de oxigênio (FU; SEBRANEK; MURANO, 1995). As lesões relacionadas à irradiação nos microrganismos podem estender sua fase *lag* de crescimento das bactérias sobreviventes, até retornarem a se multiplicar. No entanto, o efeito preventivo da irradiação pode ser estendido quando se utiliza outras técnicas de preservação atrelada à ela,

como as embalagens com atmosfera modificada (FARKAS, 1998), refrigeração e o congelamento dos alimentos.

Assim sendo, os tratamentos de irradiação são projetados para reduzir ou eliminar microrganismos viáveis que possam estar presentes nos alimentos. No entanto, se algumas células sobrevivem, elas podem requerer condições ambientais ideais para permitir o reparo de danos subletais, assim como as células danificadas pelo calor. Por esta razão, o efeito combinado do tratamento de irradiação com outros métodos de conservação pode ser usado para atingir, inicialmente, baixas populações de células viáveis e controlar o crescimento dos microrganismos durante o armazenamento (MONK; BEUCHAT; DOYLE, 1995).

### **2.3.3 Efeitos sobre o sabor e cor da carne**

A irradiação de produtos proteicos e gordurosos, como a carne, pode alterar o seu potencial de oxidação-redução, o que resulta em uma oxidação acelerada de lipídios e proteínas (FENG *et al.*, 2018), induzindo à uma perda importante na qualidade da carne. A oxidação lipídica ocorre em carnes irradiadas, devido à formação dos radicais livres e cujos efeitos adversos estão relacionados ao desenvolvimento de gosto (*off-flavors*) e aromas (*off-odors*) indesejáveis, descoloração e perda de nutrientes (AHN *et al.*, 1998; BREWER, 2009; XIAO *et al.*, 2011).

Quando se fala de oxidação lipídica, os ácidos graxos insaturados são a principal preocupação. Por serem deficientes em elétrons, nos grupos carbonilas e nas duplas ligações de carbono, a irradiação pode resultar na formação de radicais livres nesses pontos. Os radicais hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ) muitas vezes são considerados os iniciadores da oxidação lipídica no tecido muscular (HENRY, 2009).

Souza, Arthur e Canniatti-Brazaca (2007) observaram em seu estudo que as carnes de cordeiro irradiadas (2 e 4 kGy) e armazenadas por 15 dias apresentaram maiores valores de TBARS que as amostras não irradiadas, sendo que as amostras irradiadas com a dose de 4 kGy obtiveram o maior índice de oxidação, em 0 e 15 dias de armazenamento. O teste de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) é a técnica mais comumente utilizada para determinar oxidação lipídica em carnes, onde produtos de oxidação lipídica menores (predominantemente



malonaldeído, MAD) reagem com o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e produz um complexo colorido com um máximo de absorção em 530-532 nm (WEN, 2013).

Lefebvre *et al.* (1994) relataram um aumento na concentração de peróxidos a medida que se estendia o tempo de armazenamento e a dose de radiação (0, 1, 2,5 e 5 kGy) em amostras de carne bovina. Com 16 dias de armazenamento, as amostras irradiadas a 5 kGy obtiveram uma concentração de peróxidos 55 meq/1000g de gordura, enquanto a controle (0 kGy) obteve 5 meq/kg de gordura.

Dentre os compostos voláteis gerados pela oxidação lipídica, o hexanal é um bom indicador dela, e ele é um composto que contribui para o *off-odor* da carne irradiada, sendo ele, originário da auto-oxidação do ácido linoleico, que se enquadra entre os ácidos graxos mais comuns que ocorrem na carne que são, além dele, os ácidos oléico, araquidônico, palmítico e esteárico (AHN; NAM, 2004; BREWER, 2009; HENRY, 2009).

Outros exemplos de compostos voláteis gerados pela oxidação lipídica são: da auto-oxidação do ácido linoleico o pentane, pentanal, hexanal, heptanal, (E)-2-heptanal, octanal, 1-octene, (z)-octanal, (E)-octanal, (E, Z)-2,4,-decadienal e o composto primário produzido pela auto-oxidação do ácido linoleico é (E, Z)-2,4-heptadienal. Os compostos voláteis produzidos a partir da auto-oxidação do ácido oleico incluem heptanal, octanal, nonanal, decanal, (E)-2-decenal e (E)-2-undecenal (BREWER, 2009; HENRY, 2009).

O processo de irradiação pode afetar os ácidos graxos causando sua radiólise não oxidativa, que envolve a clivagem em localizações preferenciais na molécula lipídica e aleatoriamente nas ligações carbono-carbono remanescentes. Esta cisão das moléculas de ácido graxo dá origem a radicais livres que adicionam, principalmente, hidrogênio à outras moléculas ou, em menor grau, liberam um hidrogênio ou combinam com outros radicais livres. Os produtos radiolíticos estáveis são, assim, formados, estando a sua composição relacionada com a composição da molécula lipídica que lhe deu origem. A concentração de compostos voláteis gerados é dose dependente, como no caso da oxidação lipídica e da radiólise das proteínas. Os compostos voláteis isolados da radiólise dos ácidos graxos, da carne bovina, são alcenos e alcanos e, a acetona e o acetato de metila como compostos carbonilas (GIROUX; LACROIX, 1998).

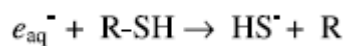
Assim, os radicais livres gerados durante o processo de irradiação não causam somente a oxidação lipídica, mas também a radiólise dos aminoácidos presentes na carne, e a degradação

desses compostos é a principal causa da formação do *off-odor* da carne irradiada, que pode produzir um odor de repolho, enxofre, pútrido, semelhante de um vegetal estragado, milho assado, cozida, queimada, metálico, dentre outros. Sendo que, existe um gama de compostos voláteis responsáveis pelo *flavor* e o odor da carne. Dentre eles, têm-se: ácidos, álcoois, aldeídos, compostos aromáticos, ésteres, éteres, furanos, hidrocarbonetos, cetonas, lactonas, pirazinas, piridinas, pirroles, sulfetos, tiazóis, tiofenos e oxazóis (BREWER, 2009; NAM *et al.*, 2003b). E segundo Lorenz *et al.* (1983), os principais contribuintes para o odor da carne são os compostos heterocíclicos que contêm nitrogênio, enxofre e/ou oxigênio, como pirazinas, tiazóis e oxazóis.

Segundo Brewer (2009), a oxidação lipídica está relacionada com o *off-odor* da carne irradiada, pois em baixas doses de irradiação, pode-se iniciar a oxidação que gera o odor indesejável. No entanto, os principais compostos voláteis responsáveis pelo *off-odor* em carnes irradiadas, são aqueles solúveis em água e que contêm nitrogênio e/ou, enxofre (AHN *et al.*, 1998; AHN; NAM, 2004), sendo formados a partir da degradação radiolítica das cadeias laterais de aminoácidos, como a metionina e cisteína (NAM *et al.*, 2003a). Yang *et al.* (2011) relataram que os compostos sulfurosos dimetil sulfeto, dimetil dissulfeto e dimetil trissulfeto são os principais responsáveis pelo *off-odor* da carne irradiada. E os mesmos autores retratam que toda carne irradiada produz um odor característico da irradiação, independentemente do grau da oxidação lipídica. A geração de novos compostos voláteis pela irradiação sugere que a degradação radiolítica das proteínas é mais importante que a oxidação lipídica no *off-odor*. Assim sendo, segundo Ahn e Nam (2004), os principais compostos voláteis responsáveis pelo *off-odor* da carne irradiada são os compostos de enxofre.

Portanto, os elétrons aquosos ( $e_{aq}^-$ ), gerados pela radiólise da molécula de água (FIGURA 2), podem promover a liberação de enxofre. Além de reagir com aminoácidos que contêm enxofre e liberar sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) e outros compostos voláteis que contribuem para o *off-flavor* da carne irradiada (FIGURA 4) (BREWER, 2009).

Figura 4 - Reação dos elétrons aquosos ( $e_{aq}^-$ ) com compostos que contêm enxofre.



Fonte: Brewer (2009).

Segundo Nam *et al.* (2003a), a irradiação resulta em compostos de enxofre voláteis responsáveis pelo odor único da carne bovina moída irradiada e, também, aceleram a oxidação

lipídica. Sendo que, as mudanças na qualidade causadas pela irradiação podem aumentar durante o armazenamento (DU; HUR; AHN, 2002). Kim *et al.* (2008) relataram que o principal composto responsável pelo *off-odor* da carne irradiada é o dimetil dissulfeto.

Feng *et al.* (2018) verificou que a quantidade de dimetil dissulfeto aumentou linearmente, à medida que a dose de radiação (0, 1,5, 3,0 e 4,5 kGy) aumentava. O hexanal, 2-metil-butanal e 3-metil-butanal foram os três aldeídos detectados, na carne bovina irradiada, pelos autores. O aumento significativo nos valores de TBARS e do hexanal, na carne bovina irradiada de 0 a 4,5 kGy, confirmou ainda mais a afirmação que o hexanal é um indicador de oxidação lipídica.

A radiação pode causar, também, danos nas proteínas, que incluem a desaminação (com produção de ácido propiônico e pirúvico), a descarboxilação (com produção de etilamina e acetaldeído), a redução de ligações dissulfeto, a oxidação de grupos sulfidrilas, a hidrólise de ligações peptídicas e alterações na valência dos íons metálicos presentes nas enzimas. Os principais produtos formados pela interação do processo de irradiação com o material proteico são os grupos carbonilas, amônia, aminoácidos livres, peróxido de hidrogênio, peróxidos orgânicos e outros (GIROUX; LACROIX, 1998; RODRIGUES, 2017).

Giroux e Lacroix (1998) relataram que a presença ou ausência do oxigênio interfere no efeito da irradiação sobre a proteína. Assim, quando a irradiação acontece em presença de oxigênio, acontece pouca, ou nenhuma agregação das proteínas, ocorre a fragmentação da cadeia polipeptídica. A exposição do radical hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ), em presença de oxigênio, gera fragmentos de baixo peso molecular. Sendo que, ele atua, predominantemente, no carbono alfa e não nas ligações peptídicas. Quando a irradiação ocorre na ausência de oxigênio, quase não há fragmentação das proteínas, ocorre a agregação delas. A exposição do radical hidroxila, ( $\bullet\text{OH}$ ) na ausência do oxigênio, induz a agregação de proteínas, por meio de novas ligações covalentes intermoleculares (não são ligações S-S), que formam moléculas de alto peso molecular, como dímeros, trímeros e até mesmo tetrâmeros. Embora a fragmentação ou agregação sejam rotas bem separadas pela presença ou ausência de oxigênio, ambos os processos são precedidos pela desnaturação da proteína. A alteração induzida pelo radical hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ) na estrutura primária leva à modificação da estrutura secundária e terciária e a proteína agora desdobrada é mais suscetível a um ataque secundário pelo radical hidroxila, levando à fragmentação ou agregação.

Zabielsky *et al.* (1984) relataram, em seu estudo, que a solubilidade da miosina diminui com o aumento da dose de radiação, a partir de 10 kGy, resultando na redução da capacidade de

retenção de água da carne de frango. Entretanto, Lee *et al.* (2000) observaram que a quantidade de proteína extraível da carne bovina (*M. semitendinosus*) aumentou ligeiramente com o aumento da dose de radiação (0, 1, 3, 5 e 10 kGy). Entretanto, padrões de eletroforese mostraram que a maior banda de miosina desapareceu e novas bandas foram geradas dependendo da dose. Estudos espectrométricos, também revelaram que, a miosina foi estruturalmente desnaturada e coagulada. Khalafalla *et al.* (2018) verificou que o conteúdo proteico total da carne bovina picada e irradiada (2, 4, 6, 8 e 10 kGy) diminuiu ligeiramente.

Quanto à coloração da carne, a irradiação também pode causar algumas mudanças, que são muito influenciadas pelo ambiente da embalagem, da mesma forma que em outros processos. Por exemplo: a carne embalada a vácuo, irradiada, pode desenvolver uma cor vermelho brilhante ou rosa mais estável, em carnes de bovino, suíno e peru. Na presença de oxigênio, no entanto, a irradiação pode causar descoloração. A extensão das alterações químicas que ocorrem no estado congelado é menor do que a dos alimentos não congelados, devido à redução da mobilidade dos radicais livres (DIKEMAN; DEVINE, 2014).

Irradiar a carne suína ou bovina *in natura* pode levar a formação de uma coloração amarronzada, esverdeada ou, até mesmo, vermelho brilhante. A carne bovina, quando comparada aos demais tipos de carnes, apresenta maior susceptibilidade à mudanças na coloração, quando irradiada. Sendo que, sua coloração pode mudar para um castanho acinzentado ou um esverdeado pouco atraente (BREWER, 2004; KIM; NAM; AHN, 2002; NAM *et al.*, 2003a).

Segundo Rodrigues (2017), a geração de pigmentos vermelhos estáveis ou de pigmentos marrons, que ao longo do tempo se tornaram vermelhos, parece ser devido à ligação de espécies reativas do oxigênio ( $\bullet\text{O}_2$ ), ou gases (CO) gerados pela irradiação, que se tornaram vinculados por ligantes de ferro, em condições de redução alteradas. Quando a irradiação é realizada em ambientes com presença de oxigênio, a geração de grandes quantidades do pigmento de metamioglobina é devido à aceleração do processo de oxidação da mioglobina. Já, a geração dos pigmentos esverdeados pode ser devido à degradação do anel de porfirina e/ou a formação da sulfomioglobina, que é a reação do ácido sulfídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ) com a molécula de mioglobina.

Feng *et al.* (2018) relataram que os radicais hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ), produzidos a partir da água pela radiação ionizante, podem facilmente, converter a mioglobina à metamioglobina, ou mesmo remover o ferro heme, no estado férrico, e forçá-lo a se tornar um catalisador para acelerar a oxidação lipídica. Na carne fresca, o ferro heme dos pigmentos está na sua forma ferrosa e o  $\text{O}_2$

pode formar ligantes com a mioglobina para produzir uma cor vermelho brilhante. No entanto, a possível redução dos valores de  $a^*$  podem indicar a degradação ou desnaturação dos pigmentos da carne pela irradiação.

Outro ponto que deve ser abordado é a formação do monóxido de carbono (CO) durante a irradiação, sendo considerado como marcador para uma variedade de carnes irradiadas, sendo ele um fator que pode alterar a coloração da carne. Portanto, parece mais provável que as alterações de cor observadas sejam devidas à produção da forma carboxi dos pigmentos heme no interior da carne. A carboximioglobina e a oximioglobina têm espectros similares, e as pequenas diferenças na posição e magnitude dos picos de absorção (MILLAR; MOSS; STEVENSON, 2000).

Tem sido difícil explicar completamente as mudanças na cor da carne bovina e de cordeiro após a irradiação. Uma das possíveis justificativas para essa alteração de cor, pode ser a formação de pigmentos irradiados, como carboximioglobina em toda a carne. Na verdade, se a carboximioglobina é o pigmento, inicialmente, formado durante a irradiação da carne, ele pode retardar a formação de metamioglobina presente (MILLAR; MOSS; STEVENSON, 2000). Nam *et al.* (2003b) relatam que o aumento dos valores da  $a^*$  da carne irradiada é devido a formação do pigmento carboximioglobina.

Por fim, durante o armazenamento prolongado ou a maturação, a capacidade de redução do tecido muscular muda, como discutido anteriormente. Assim, a maturação, devido ao consumo e inativação de sistemas redutores, pelo acúmulo de subprodutos metabólicos, pode ter efeitos significativos na cor da carne bovina, como o aumento do valor de  $L^*$ , sendo que, a irradiação aumenta, significativamente, essas alterações do armazenamento. Aumentar o tempo de maturação antes da irradiação aumenta o valor  $L^*$  e diminui o valor de  $a^*$ . Essas observações podem refletir das mudanças no potencial de oxidação-redução, que ocorrem durante o processo de maturação e, conseqüentemente, resultam na redução da estabilidade da cor durante a irradiação (BREWER, 2004).

Nanke, Sebranek e Olson (1998) avaliaram o efeito da irradiação *electronbeam* (1,5, 3,0, 4,5, 7,5 e 10,5 kGy) na coloração da carne bovina (*Longissimusdorsi*), embalada a vácuo e armazenada por 12 semanas. Os autores perceberam que os valores de  $a^*$  reduziram e os valores de  $b^*$  aumentaram com a dose de radiação e com o decorrer do tempo de armazenamento. Assim, observaram que as mudanças da coloração da carne foram dose dependente e não estavam relacionadas com a concentração de mioglobina.

Kim, Nam eAhn (2002) estudaram o efeito da irradiação *electronbeam*, a dose de 3 kGy, sobre a coloração da carne bovina, armazenada por 0 e 7 dias, observando que a irradiação não afetou os valores de  $L^*$  da carne, enquanto os valores de  $a^*$  reduziram. Esses autores confirmaram as primícias que a carne bovina tem maior alteração de cor que as demais, e eles puderam relatar isso nesse estudo, pois avaliaram o efeito da irradiação sobre a carne suína e de peru também. Concluindo o estudo, os autores sugeriram que o desenvolvimento da cor da carne irradiada pode estar relacionado com a produção de gás, especialmente o gás CO, produzido pela irradiação. E que as mudanças causadas pela irradiação na coloração da carne bovina foram mais nítidas nas carnes irradiadas em embalagens aeróbicas do que nas embaladas a vácuo. No entanto, uma explicação exata sobre o desenvolvimento da cor da carne irradiada ainda é necessária.

#### **2.3.4 Efeito sobre a maciez da carne**

O processo de irradiação da carne tem sido estudado por favorecer a maciez da carne (KANATT; CHAWLA; SHARMA, 2015; LAKRITZ *et al.*, 1987; YOOK *et al.*, 2001), entretanto, estudos têm mostrado que pode ocorrer o efeito contrário, ou seja, ao invés de reduzir a força de cisalhamento, ela pode aumentá-la, reduzindo a maciez (GROZDANOV *et al.*, 1982; ROWE *et al.*, 2004a; YOON, 2003), mostrando a necessidade de mais estudos que possam elucidar esse efeito.

Quanto ao favorecimento da maciez pela irradiação, Kanatt, Chawla e Sharma (2015) observaram uma redução significativa na força de cisalhamento da carne de búfalo, à medida que se aumentava a dose de radiação (0, 2,5, 5 e 10 kGy), e as demais carnes estudadas (cordeiro e frango) apresentaram o mesmo resultado. Lakritz *et al.* (1987) avaliou o efeito da irradiação, utilizando doses de 5, 10, 30 e 50 kGy, sobre a maciez do músculo *Longissimusdorsibovino* e relataram uma redução na força de cisalhamento, à medida que se aumentava a dose de radiação. Yook *et al.* (2001), trabalhando com músculos *sternomandibularis* bovino, notaram que a força de cisalhamento um dia (a 4 °C), após a irradiação (5 kGy), foi menor nas amostras irradiadas do que nas não irradiadas.

Dentre os fatores que explicam o amaciamento da carne pelo processo de irradiação têm-se:

- Solubilização da molécula de colágeno: isso ocorre devido a ruptura das ligações peptídicas que formam a molécula, levando à formação de fragmentos moleculares de baixo peso, sendo esses mais solúveis (BAILEY; RHODES; CATER, 1964; BAILEY; RHODES, 1964). Kanatt, Chawla e Sharma (2015) observaram um aumento de 48% na solubilidade da molécula de colágeno na carne de búfalo, irradiada com uma dose de 10 kGy. Rodrigues *et al.* (2020), também relatou um aumento no percentual de colágeno solúvel nas amostras de *Longissimusthoracis et lumborum* bovino, onde as amostras, irradiadas a 9 kGy, apresentaram 23,59% de colágeno solúvel, enquanto a amostra controle (0 kGy) obteve 17,77%.
- Degradação das proteínas miofibrilares: os raios gama podem romper fisicamente as proteínas miofibrilares. Além, de degradar as proteínas desmina, nebulina, titina, actina e miosina, causando o alongamento do sarcômero e, conseqüentemente, aumentado a maciez da carne (HOROWITS *et al.*, 1986; YOOK *et al.*, 2001; YOON, 2003). Rodrigues (2017) relata que os raios gama podem desnaturar as proteínas, induzindo o rompimento das ligações entre os miofilamentos do músculo, causando um aumento de comprimento ou evitando que o sarcômero encolha. Lee *et al.* (2000) notaram que parte da cabeça da miosina foi desnaturada pela irradiação. Lakritz *et al.* (1987) observaram que a fragmentação miofibrilar do músculo *Longissimusdorsi* aumentou, à medida que a dose de radiação (5, 10, 30 e 50 kGy) aumentava.

Entretanto, como foi relatado anteriormente, a irradiação tem causado a redução da maciez da carne. Rowe *et al.* (2004a) trabalharam com músculo bovino irradiado a 6,4 kGy, utilizando um irradiador CIRCE IIIR *electronbeam*, e armazenado por 1, 2, 4, 8 e 15 dias *post mortem*. Os autores observaram um aumento na força de cisalhamento das amostras irradiadas, comparado com a controle. Sendo que, isso ocorreu em todos os tempos de maturação, onde as amostras irradiadas e armazenadas por 15 dias *post mortem* apresentaram uma força de cisalhamento 0,8 kg maior que as não irradiadas.

A menor maciez da carne irradiada pode ser atribuída à redução da proteólise *post mortem* devido à irradiação. O sistema de calpaínas ( $\mu$  e m-calpaínas), que são as principais responsáveis pela proteólise *post mortem* durante a maturação, possuem resíduos de histidina e resíduos sulfurados de cisteína nos seus sítios ativos, portanto, requerem condições redutoras para apresentarem atividade ótima. Na verdade, condições oxidantes influenciam a atividade da  $\mu$ -calpaína. O processo de irradiação leva à condições oxidantes no músculo, devido à formação de radicais livres (radiólise da molécula de água), fazendo com que a histidina seja convertida a derivados carbonílicos, e a cisteína forme pontes dissulfídricas, levando à constituição de ligações intra ou intermoleculares que, embora não inibam totalmente sua autólise, promove a redução da atividade enzimática. Como consequência, a proteólise *post mortem* da carne é prejudicada (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013; GUTTMANN *et al.*, 1997; NAM; AHN, 2003).

Rowe *et al.* (2004a) observou que a irradiação reduziu a atividade e a autólise da  $\mu$ -calpaína, enquanto a m-calpaína não foi afetada. Assim, a redução da atividade da  $\mu$ -calpaína reduziu a proteólise *post mortem* da carne bovina, reduzindo sua maciez. Além disso, esses mesmos autores relataram que a irradiação reduziu a taxa de inativação da calpastatina. Sabe-se que, a calpastatina demonstra ser um substrato para as calpaína no músculo *post mortem*. A degradação da calpastatina pela  $\mu$  e m-calpaína resulta na redução da atividade dessa enzima. De fato, tem sido sugerido que, no músculo *post mortem*, a degradação da calpastatina pela calpaína limita a atividade inibitória da calpastatina sobre as calpaínas. Se a oxidação do meio retardou a atividade das calpaínas nas amostras irradiadas, então é possível que a falta da degradação, induzida pelas calpaínas e, assim, a menor inativação da calpastatina possa ser um resultado colateral da oxidação da proteína. Alternativamente, a própria oxidação pode ter alterado a calpastatina de alguma maneira para torná-la menos suscetível à inativação durante a maturação.

Yoon (2003) observou que a irradiação gama causou o encurtamento do sarcômero dos peitos de frango irradiados, mesmo tendo ocorrido a degradação física das miofibrilas, e isso pode ter contribuído para a menor maciez dos peitos de frangos irradiados, comparado com os não irradiados. E esse mesmo autor ressalta, que os efeitos da radiação sobre a proteólise *post mortem* e consequente maciez da carne ainda são escassos.

Quanto à utilização da irradiação como forma de inibir ou reduzir o crescimento de microrganismos em carnes maturadas à altas temperaturas. Lee, Sebranek e Parrish(1996)



observaram que bifes de carne bovina embalados em atmosfera modificada (25% CO<sub>2</sub> e 75% N<sub>2</sub>) e irradiados a 2 kGy, foram mais macios quando armazenado por 2 dias, a 30 °C, do que os controles não irradiados e armazenados a 2 °C, por 14 dias. Kim *et al.* (2018) avaliaram o efeito de altas temperaturas (14 °C) na maciez da carne bovina (*M. semimembranosus*), pré-rigor (2 horas *post mortem*), irradiadas com uma dose de 5 kGy e armazenada por 0, 3, 7, 14 dias, e observaram que o processo de irradiação não afetou os valores de força de cisalhamento das amostras. Sendo válido ressaltar que, os dois trabalhos citados utilizaram a irradiação *electronbeam*. Assim, pode-se observar uma hipótese de que altas temperaturas de maturação podem reduzir o efeito negativo da irradiação sobre a proteólise *post mortem*.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a importância da bovinocultura no Brasil e a necessidade de melhorar a maciez da carne de animais da raça Nelore, por meio de técnicas aplicáveis à indústria cárnea, objetivou-se avaliar o efeito do uso de maiores temperaturas de maturação (1, 7 e 15 °C), junto com a irradiação (3 kGy) sobre a qualidade da carne bovinamaturada (por 1, 4, 7, 14 e 21 dias). O aumento da temperatura de maturação (7 e 15 °C) proporciona maior maciez nos contrafilés bovinos já aos 14 dias que naqueles maturados a 1 °C, por 21 dias, enquanto a irradiação minimiza o desenvolvimento microbiológico, apesar de afetar negativamente a proteólise *post mortem*. Isso permite a obtenção de carnes seguras e mais macias em menor tempo.

No entanto, o aumento da temperatura de maturação e a irradiação, também aceleram os processos oxidativos de proteínas e lipídios. Portanto, o perfil de voláteis dos bifés maturados a 7 °C e, principalmente, a 15 °C, apresentaram maior teor de compostos oriundos de processos deteriorativos, seja por micro-organismos ou oxidação de proteínas e lipídeos, o que é até superior ao efeito da própria irradiação. Alguns exemplos desses compostos voláteis são o 1-octen-3-ol, o hexanal, o etanol e o sulfeto de dimetila, o qual apresenta potencial como marcador da irradiação.

Portanto, a maturação acelerada da carne bovina pode ser realizada com o uso de maiores temperaturas de maturação e de irradiação, a fim de obter maior maciez, com menores alterações oxidativas e microbiológicas. Porém, são necessários estudos envolvendo o uso de diferentes binômios temperatura-tempo de maturação, para avaliar as condições ideais de amaciamento da carne, bem como de estudos com consumidores, para avaliar se a formação e/ou o aumento do teor dos compostos voláteis formados pela irradiação afeta as percepções de sabor e de aroma da carne bovina.

## REFERÊNCIAS

- AASLYNG, M. D.; MEINERT, L. Meat flavour in pork and beef - From animal to meal. **Meat Science**, [Kidlington], v. 132, p. 112–117, Oct. 2017. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174017301547?via%3Dihub>. Acesso em: 20 out. 2020.
- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. **Perfil da pecuária do Brasil**. Relatório Anual 2020. Disponível em: <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2020/>. Acesso em: 03 nov. 2020.
- ACNB. Associação dos Criadores de Nelore do Brasil. **A Raça** – Histórico. Disponível em: <http://www.nelore.org.br/Raca/Historico>. Acesso em: 03 nov. 2020.
- AHN, D. U. *et al.* Effect of muscle type, packaging, and irradiation on lipid oxidation, volatile production, and color in raw pork patties. **Meat Science**, [Kidlington], v. 49, n. 1, p. 27–39, May 1998. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174097001010?via%3Dihub>. Acesso em: 15 nov. 2017.
- AHN, D. U.; NAM, K. C. Effects of ascorbic acid and antioxidants on color, lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef. **Radiation Physics and Chemistry**, [Kidlington], v. 71, n. 1-2, p. 151–156, Sept./Oct. 2004. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0969806X04001872?via%3Dihub>. Acesso em: 15 nov. 2017.
- AROEIRA, C. N. **Efeitos do congelamento prévio à maturação na maciez e cor da carne de tourinhos Nelore e Aberdeen Angus**. 2014. 104 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- AROEIRA, C. N. *et al.* Effect of freezing prior to aging on myoglobin redox forms and CIE color of beef from Nellore and Aberdeen Angus cattle. **Meat Science**, [Kidlington], v. 125, p. 16-21, Mar. 2017. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174016305216?via%3Dihub>. Acesso em: 22 jan. 2020.
- BAILEY, A. J.; RHODES, D. N.; CATER, C. W. Irradiation-induced crosslinking of collagen. **Radiation Research**, [Lawrence], v. 22, n. 4, p. 606–621, Aug. 1964. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14201872/>. Acesso em: 17 nov. 2017.
- BAILEY, A. J.; RHODES, D. N. Treatment of meats with ionising radiations. XI -Changes in the texture of meat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [Chichester], v. 15, n. 7, p. 504–508, July 1964. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2740150712>. Acesso em: 17 nov. 2017.

- BARÓN, C. L. C. **Influência do pH final na bioquímica e na qualidade do músculo *Longissimusdorsi* de animais *Bos taurusindicus* machos inteiros**. 2016. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2016.
- BERIAIN, M. J. *et al.* Predicting *Longissimus dorsi* myoglobin oxidation in aged beef based on early *post-mortem* colour measurements on the carcass as a colour stability index. **Meat Science**, [Kidlington], v. 81, n. 3, p. 439–445, Mar. 2009. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174008003161?via%3Dihub>. Acesso em: 22 jan. 2020.
- BIANCHINI, W. *et al.* Efeito do grupo genético sobre as características de carcaça e maciez da carne fresca e maturada de bovinos superprecoces. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [Viçosa], v. 36, n. 6, p. 2109–2117, dez. 2007. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-35982007000900022](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982007000900022). Acesso em: 20 nov. 2017.
- BOAKYE, K.; MITTAL, G. S. Chances in colour of beef *M. longissimus dorsi* muscle during ageing. **Meat Science**, [Kidlington], v. 42, n. 3, p. 347-354, Feb. 1996. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/0309174095000259?via%3Dihub>. Acesso em: 20 nov. 2017.
- BOAKYE, K.; MITTAL, G. S. Changes in pH and water holding properties of *Longissimus dorsi* muscle during beef ageing. **Meat Science**, [Kidlington], v. 34, n. 3, p. 335-349, Jan. 1993. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/030917409390082S?via%3Dihub>. Acesso em: 22 jan. 2020.
- BREWER, S. Irradiation effects on meat color – a review. **Meat Science**, [Kidlington], v. 68, n. 1, p. 1–17, Sept. 2004. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174004000488?via%3Dihub>. Acesso em: 15 nov. 2017.
- BREWER, M. S. Irradiation effects on meat flavor : A review. **Meat Science**, [Kidlington], v. 81, n. 1, p. 1–14, Jan. 2009. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174008002337?via%3Dihub>. Acesso em: 15 nov. 2017.
- BRIGHTWELL, G. *et al.* Possible involvement of psychrotolerant *Enterobacteriaceae* in blown pack spoilage of vacuum-packaged raw meat. **International Journal of Food Microbiology**, [Amsterdam], v. 119, n. 3, p. 334–339, Nov. 2007. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0168160507004588?via%3Dihub>. Acesso em: 01 mar. 2020.

BRUCE, H. L.; STARK, J. L.; BEILKEN, S. L. The effect of finishing diet and *postmortem* aging on the eating quality of the *M. longissimus thoracis* of electrically stimulated Brahman steer carcasses. **Meat Science**, [Kidlington], v. 67, n. 2, p. 261–268, June 2004. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174003002894?via%3Dihub>. Acesso em: 02 fev. 2020.

CHOE, J.-H.; STUART, A.; KIM, Y. H. B. Effect of different aging temperatures prior to freezing on meat quality attributes of frozen/thawed lamb loins. **Meat Science**, [Kidlington], v. 116, p. 158-164, June 2016. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174016300316?via%3Dihub>. Acesso em: 25 nov. 2017.

COLLE, M. J. *et al.* Influence of extended aging on beef quality characteristics and sensory perception of steaks from the *biceps femoris* and *semimembranosus*. **Meat Science**, [Kidlington], v. 119, p. 110–117, Sept. 2016. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174016301218?via%3Dihub>. Acesso em: 25 jan. 2020.

COLLE, M. J. *et al.* Influence of extended aging on beef quality characteristics and sensory perception of steaks from the *gluteus medius* and *longissimus lumborum*. **Meat Science**, [Kidlington], v. 110, p. 32–39, Dec. 2015. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174015300413?via%3Dihub>. Acesso em: 25 nov. 2017.

DEVINE, C. E.; WAHLGREN, N. M.; TORNBERG, E. Effect of rigor temperature on muscle shortening and tenderization of restrained and unrestrained beef *m. longissimus thoracicus* et *lumborum*. **Meat Science**, [Kidlington], v. 51, n. 1, p. 61-72, Jan. 1999. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174098000989?via%3Dihub>. Acesso em: 19 nov. 2017.

DIAS, V. A. D. **Expressão das proteínas calpaína e calpastatina e suas relações com a qualidade da carne de bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*)**. 2016. 63 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2016.

DIKEMAN, M.; DEVINE, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2nd. ed. United Kingdom: Elsevier Science & Technology, 2014. 1712p.

DU, M.; HUR, S. J.; AHN, D. U. Raw-meat packaging and storage affect the color and odor of irradiated broiler breast fillets after cooking. **Meat Science**, [Kidlington], v. 61, n. 1, p. 49–54, May 2002. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174001001619?via%3Dihub>. Acesso em: 16 jan. 2020.

FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food: A review. **International Journal of Food Microbiology**, [Amsterdam], v. 44, n. 3, p. 189–204, Nov. 1998. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0168160598001329?via%3Dihub>. Acesso em: 30 nov. 2017.

FAROUK, M. *et al.* Meat ageing improvement in waterholding: A biophysical process? **55th ICoMST**, Seoul, p. 1-4, 2010. Disponível em: [http://icomst-proceedings.helsinki.fi/papers/2010\\_03\\_64.pdf](http://icomst-proceedings.helsinki.fi/papers/2010_03_64.pdf). Acesso em: 15 jan. 2020.

FENG, X. *et al.* Effect of irradiation on the parameters that influence quality characteristics of raw beef round eye. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [New York], v. 45, p. 115–121, Feb. 2018. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1466856417307865?via%3Dihub>. Acesso em: 22 jan. 2020.

FU, A-H.; SEBRANEK, J. G.; MURANO, E. A. Survival of *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* and *Escherichia coli* 0157:H7 and quality changes after irradiation of beef steaks and ground beef. **Journal of Food Science**, [Malden], v. 60, n. 5, p. 972-977, Sept. 1995. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1995.tb06273.x>. Acesso em: 03 mar. 2020.

GEESINK, G. H.; BEKHIT, A.-D.; BICKERSTAFFE, R. Rigor temperature and meat quality characteristics of lamb longissimus muscle. **Journal of Animal Science**, [Champaign], v. 78, n. 11, p. 2842–2848, Nov. 2000. Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/78/11/2842/4625635>. Acesso em: 17 nov. 2017.

GIROUX, M.; LACROIX, M. Nutritional adequacy of irradiated meat - a review. **Food Chemistry**, [Kidlington], v. 31, n. 4, p. 257–264, May 1998. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0963996998000921?via%3Dihub>. Acesso em: 17 nov. 2017.

GOLL, D. E. *et al.* The calpain system. **Physiological Reviews**, [Bethesda], v. 83, n. 3, p. 731-801, July 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12843408/#:~:text=Abstract,to%20inhibit%20the%20two%20c%20alpains.&text=domain%20IV%2C%20which%20resembles%20the,EF%2Dhand%20family%20of%20polypeptides>. Acesso em: 17 nov. 2017.

GOMIDE, L. A. M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. **Ciência e qualidade da carne: Fundamentos**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2013. 197p.

GROZDANOV, A. *et al.* Effect of low-dose irradiation and subsequent storage on the technological properties of beef. **European Meeting of Meat Research Workers**, p. 127-129, 1982.

GUTTMANN, R. P.*et al.* Oxidation inhibits substrate proteolysis by calpain I but not autolysis. **Journal of Biological Chemistry**, [Bethesda], v. 272, n. 3, p. 2005–2012, Jan. 1997. Disponivelem: <https://www.jbc.org/action/showPdf?pii=S0021-9258%2819%2967514-9>. Acessoem: 25 jan. 2020.

HENRY, F. C. Irradiation effects on meat: a review. **Revista de Ciências Agrárias**, [Lisboa], v. 32, n. 2, p. 255-262, Aug. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/pdf/rca/v32n2/v32n2a23.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2017.

HERNÁNDEZ-MACEDO, M. L.; BARANCELLI, G. V.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J. Microbial deterioration of vacuum-packaged chilled beef cuts and techniques for microbiota detection and characterization: a review. **Brazilian Journal of Microbiology**, [São Paulo], v. 42, n. 1, p. 1-11, Jan. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24031598/>. Acesso em: 20 nov. 2017.

HERTOG-MEISCHKE, M. J. A. D.; SMULDERS, F. J. M.; LOGTESTIJN, J. G. V. The effect of storage temperature on drip loss from fresh beef. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [New York], v. 78, n. 4, p. 522-526, Nov. 1998. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/%28SICI%291097-0010%28199812%2978%3A4%3C522%3A%3AAID-JSFA150%3E3.0.CO%3B2-F>. Acessoem: 20 nov. 2017.

HOROWITS, R.*et al.* A physiological role for titin and nebulin in skeletal muscle. **Nature**, [London], v. 323, n. 6084, p. 160–164, Sept. 1986. Disponivelem: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3755803/>. Acessoem: 20 nov. 2017.

HOU, X.*et al.* Effect of suspension method and aging time on meat quality of Chinese fattened cattle *M. Longissimus dorsi*. **Meat Science**, [Kidlington], v. 96, n. 1, p. 640-645, Jan. 2014. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174013005111?via%3Dihub>. Acessoem: 21 nov. 2017.

HUFF-LONERGAN, E.; ZHANG, W.; LONERGAN, S. M. Biochemistry of postmortem muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization. **Meat Science**, [Kidlington], v. 86, n. 1, p. 184–195, Sept. 2010. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174010001816?via%3Dihub>. Acessoem: 20 nov. 2017.

HWANG, I. H.*et al.* Effects of muscle shortening and proteolysis on Warner–Bratzler shear force in beef *longissimus* and *semitendinosus*. **Meat Science**, [Kidlington], v. 68, n. 3, p. 497–505, Nov. 2004. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S030917400400107X?via%3Dihub>. Acessoem: 20 nov. 2017.

JIANG, T.*et al.* The influence of forage diets and aging on beef palatability. **Meat Science**, [Kidlington], v. 86, n. 3, p. 642–650, Nov. 2010. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174010002019?via%3Dihub>. Acessoem: 26 nov. 2017.

- KANATT, S. R.; CHAWLA, S. P.; SHARMA, A. Effect of radiation processing on meat tenderisation. **Radiation Physics and Chemistry**, [Kidlington], v. 111, p. 1–8, June 2015. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0969806X15000523?via%3Dihub>. Acessoem: 26 nov. 2017.
- KAPPRELL, H. P.; GOLL, D. E. Effect of Ca<sup>2+</sup> on binding of the calpains to calpastatin. **Journal of Biological Chemistry**, [Bethesda], v. 264, n. 30, p. 17888–17896, Oct. 1989. Disponivelem: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(19\)84656-2/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)84656-2/fulltext). Acessoem: 26 nov. 2017.
- KEMP, C. M. *et al.* Tenderness - An enzymatic view. **Meat Science**, [Kidlington], v. 84, n. 2, p. 248–256, Feb. 2010. Disponivel em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174009001673>. Acessoem: 22 jan. 2020.
- KHALAFALLA, G. M. *et al.* Effect of gamma irradiation on microbial load, physicochemical characteristics and shelf-life of raw minced beef meat. **Middle East Journal of Applied Sciences**, [Mekelle], v. 8, n. 2, p. 625-634, Apr./June 2018. Disponivel em: <http://www.curreweb.com/mejas/mejas/2018/625-634.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2020.
- KHAN, M. I.; JO, C.; TARIQ, M. R. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors - A systematic review. **Meat Science**, [Kidlington], v. 110, p. 278–284, Dec. 2015. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174015300723?via%3Dihub>. Acessoem: 22 jan. 2020.
- KILGANNON, A. K. *et al.* The effect of different temperature-time combinations when ageing beef: Sensory quality traits and microbial loads. **Meat Science**, [Kidlington], v. 150, p. 23-32, Apr. 2019. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174018307824?via%3Dihub>. Acessoem: 01 fev. 2020.
- KIM, J. H. *et al.* Reduction of volatile compounds and off-odor in irradiated ground pork using a charcoal packaging. **Journal of Muscle Foods**, [Malden], v. 19, n. 2, p. 194–208, Apr. 2008. Disponivelem: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1745-4573.2008.00112.x>. Acessoem: 20 nov. 2017.
- KIM, Y. H. B. *et al.* Effects of stepwise dry/wet-aging and freezing on meat quality of beef loins. **Meat Science**, [Kidlington], v. 123, p. 57–63, Jan. 2017. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174016302674?via%3Dihub>. Acessoem: 22 jan. 2020.
- KIM, Y. H. B; FRANDBSEN, M.; ROSENVOLD, K. Effect of ageing prior to freezing on colour stability of ovine longissimus muscle. **Meat Science**, [Kidlington], v. 88, n. 3, p. 332-337, July 2011. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S030917401000450X?via%3Dihub>. Acessoem: 22 jan. 2020.



KIM, Y.H.; NAM, K.C.; AHN, D.U. Color, oxidation-reduction potential, and gas production of irradiated meats from different animal species. **Journal of Food Science**, [Malden], v. 67, n. 5, p. 1692-1695, June 2002. Disponivelem: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08707.x>. Acessoem: 30 jan. 2020.

KIM, S. Y. *et al.* Application of high temperature (14 °C) aging of beef *M. semimembranosus* with low-dose electron beam and X-ray irradiation. **Meat Science**, [Kidlington], v. 136, p. 85–92, Feb. 2018. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174017309373?via%3Dihub>. Acessoem: 22 jan. 2020.

KOOHMARAIE, M. *et al.* Postmortem proteolysis in *longissimus* muscle from beef, lamb and pork carcasses. **Journal of Animal Science**, [Champaign], v. 69, n. 2, p. 617–624, Feb. 1991. Disponivelem: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2016190/>. Acessoem: 22 nov. 2017.

KOOHMARAIE, M.; GEESINK, G. H. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. **Meat Science**, [Kidlington], v. 74, n. 1, p. 34–43, Sept. 2006. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174006001355?via%3Dihub>. Acessoem: 20 nov. 2017.

KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, [Kidlington], v. 36, n. 1-2, p. 93-104, 1994. Disponivel em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/0309174094900361?via%3Dihub>. Acessoem: 20 nov. 2017.

KOOHMARAIE, M.; SCHOLLMMEYER, J. E.; DUTSON, T. R. Effect of low-calcium-requiring calcium activated factor on myofibrils under varying pH and temperature conditions. **Journal of Food Science**, [Malden], v. 57, n. 1, p. 28-32, Jan. 1986. Disponivelem: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1986.tb10828.x>. Acessoem: 22 nov. 2017.

LAKRITZ, L. *et al.* Immediate effects of ionizing radiation on the structure of unfrozen bovine muscle tissue. **Meat Science**, [Kidlington], v. 20, n. 2, p. 107–117, 1987. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22056168/>. Acesso em: 21 nov. 2017.

LANDGRAF, M. **Fundamentos e perspectivas da irradiação de alimentos visando ao aumento de sua segurança e qualidade microbiológica**. 2002. 87p. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

LEE, B. H. *et al.* Effects of temperature and storage duration on the microflora, physicochemical and sensory changes of vacuum- or nitrogen-packed pork. **Meat Science**, [Kidlington], v. 13, n. 2, p. 99-112, 1985. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/0309174085900397?via%3Dihub>. Acessoem: 03 mar. 2020.

LEE, J.-W *et al.* Conformational changes of myosin by gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, [Kidlington], v. 58, n. 3, p. 271–277, May 2000. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0969806X99004661?via%3Dihub>. Acessoem: 17 nov. 2017.

LEE, M.; SEBRANEK, J.; PARRISH JR., F. C. Accelerated postmortem aging of beef utilizing electron- beam irradiation and modified atmosphere packaging. **Journal of Food Science**, [Malden], v. 61, n. 1, p. 133–136, Jan. 1996. Disponivelem: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1996.tb14742.x>. Acessoem: 22 nov. 2017.

LEFEBVRE, N. *et al.* Improvement of shelf-life and wholesomeness of ground beef by irradiation 2. chemical analysis and sensory evaluation. **Meat Science**, [Kidlington], v. 36, n. 3, p. 371-380, 1994. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/0309174094901333?via%3Dihub>. Acessoem: 01 fev. 2020.

LI, K. *et al.* Effect of very fast chilling and aging time on ultra-structure and meat quality characteristics of Chinese Yellow cattle *M. Longissimus lumborum*. **Meat Science**, [Kidlington], v. 92, n. 4, p. 795–804, Dec. 2012. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174012002550?via%3Dihub>. Acessoem: 17 nov. 2017.

LORENZ, G. *et al.* Identification of sheep liver volatiles. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, [Kidlington], v. 31, n. 5, p. 1052–1057, Sept. 1983. Disponivel em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00119a033>. Acesso em: 15 jan. 2020.

MACDOUGALL, D. B. Changes in the colour and opacity of meat. **Food Chemistry**, [Kidlington], v. 9, n. 1-2, p. 75-88, July 1982. Disponivel em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/030881468290070X?via%3Dihub>. Acessoem: 15 jan. 2020.

MAÑAS, P.; PAGÁN, R. Microbial inactivation by new technologies of food preservation. **Journal of Applied Microbiology**, [Malden], v. 98, n. 6, p. 1387–1399, 2005. Disponivelem: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15916651/>. Acessoem: 01 mar. 2020.

MANCINI, R. A.; RAMANATHAN, R. Effects of postmortem storage time on color and mitochondria in beef. **Meat Science**, [Kidlington], v. 98, n. 1, p. 65-70, Sept. 2014. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174014001119?via%3Dihub>. Acesso em: 17 jan. 2020.

MARIANO, C. O. **Efeitos da radiação gama na conservação da carne bovina refrigerada**. 2004. 76 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

- MIKAMI, M. *et al.* Degradation of myofibrils from rabbit, chicken and beef by cathepsin L and lysosomal lysates. **Meat Science**, [Kidlington], v. 21, n. 2, p. 81–97, 1987. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/0309174087900222?via%3Dihub>. Acesso em: 23 nov. 2017.
- MILLAR, S. J.; MOSS, B. W.; STEVENSON, M. H. The effect of ionising radiation on the colour of leg and breast of poultry meat. **Meat Science**, [Kidlington], v. 55, n. 3, p. 361–370, July 2000. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174099001655?via%3Dihub>. Acesso em: 23 nov. 2017.
- MIYAGUSKU, L. *et al.* Avaliação microbiológica e sensorial da vida-útil de cortes de peito de frango irradiados. **Ciência e Tecnologia e Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 7-16, dez. 2003. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?frbrVersion=3&script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612003000400003&lng=en&tlng=en](https://www.scielo.br/scielo.php?frbrVersion=3&script=sci_arttext&pid=S0101-20612003000400003&lng=en&tlng=en). Acesso em: 02 mar. 2020.
- MONK, J. D.; BEUCHAT, L. R.; DOYLE, M. P. Irradiation inactivation of food-borne microorganisms. **Journal of Food Protection**, [Des Moines], v. 58, n. 2, p. 197-208, Feb. 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31121676/#:~:text=The%20process%20involves%20exposing%20the,naturally%20present%20on%20unprocessed%20foods>. Acesso em: 02 mar. 2020.
- NAM, K. C.; AHN, D. U. Use of antioxidants to reduce lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated pork homogenates and patties. **Meat Science**, [Kidlington], v. 63, n. 1, p. 1–8, Jan. 2003. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174002000438?via%3Dihub>. Acesso em: 15 nov. 2017.
- NAM, K. C. *et al.* Effects of ascorbic acid and antioxidants on the lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef. **Journal of Food Science**, [Malden], v. 68, n. 5, p. 1680–1685, July 2003a. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2621.2003.tb12313.x>. Acesso em: 15 nov. 2017.
- NAM, K. C. *et al.* Effect of dietary vitamin E and irradiation on lipid oxidation, color, and volatiles of fresh and previously frozen turkey breast patties. **Meat science**, [Kidlington], v. 65, n. 1, p. 513–521, Sept. 2003b. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174002002437?via%3Dihub>. Acesso em: 15 nov. 2017.
- NANKE, K. E.; SEBRANEK, J. G.; OLSON, D. G. Color characteristics of irradiated vacuum-packaged pork, beef, and turkey. **Journal of Food Science**, [Malden], v. 63, n. 6, p. 1001-1006, 1998. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1998.tb15842.x>. Acesso em: 26 jan. 2020.

- O'HALLORAN, G. R. *et al.* The role of endogenous proteases in the tenderisation of fast glycolysing muscle. **Meat Science**, [Kidlington], v. 47, n. 3-4, p. 187–210, Nov./Dec. 1997. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174097000466?via%3Dihub>. Acesso em: 01 dez. 2017.
- OTSUKA, Y.; GOLL, D. E. Purification of the Ca<sup>2+</sup>- dependent proteinase inhibitor from bovine cardiac muscle and its interaction with the millimolar Ca<sup>2+</sup>- dependent proteinase. **Journal of Biological Chemistry**, [Bethesda], v. 262, n. 12, p. 5839-5851, Apr. 1987. Disponível em: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(18\)45651-7/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)45651-7/fulltext). Acesso em: 01 dez. 2017.
- PASSOS, F. R. **Avaliação do uso da radiação gama na conservação de carnes**. 2009. 50 p. Monografia (Pós-Graduação) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.
- RESCONI, V. C.; ESCUDERO, A.; CAMPO, M. M. The development of aroma in ruminant meat. **Molecules**, [Switzerland], v. 18, n. 6, p. 6748–6781, June 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.ez26.periodicos.capes.gov.br/pmc/articles/PMC6270652/>. Acesso em: 25 jan. 2020.
- RODRIGUES, L. M. **Efeito da radiação gama e do congelamento prévios à maturação na maciez da carne bovina**. 2017. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.
- RODRIGUES, L. M. *et al.* Combined effects of gamma irradiation and aging on tenderness and quality of beef from Nellore cattle. **Food Chemistry**, [Kidlington], v. 313, p. 126137, May 2020. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814619322897?via%3Dihub>. Acesso em: 21 jan. 2020.
- ROWE, L. J. *et al.* Influence of early postmortem protein oxidation on beef quality. **Journal of Animal Science**, [Champaign], v. 82, n. 3, p. 785–793, Mar. 2004b. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15032435/#:~:text=Protein%20carbonyl%20content%20was%20positively,fresh%20meat%20color%20and%20tenderness>. Acesso em: 11 out. 2020.
- ROWE, L. J. *et al.* Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of  $\mu$ -calpain. **Journal of Animal Science**, [Champaign], v. 82, n. 11, p. 3254–3266, Nov. 2004a. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15542472/#:~:text=Irradiation%20decreased%20mu%2Dcalpain%20activity,of%20tenderization%20of%20beef%20steaks>. Acesso em: 25 jan. 2020.
- SALES, L. A. *et al.* Effects of freezing/irradiation/thawing processes and subsequent aging on tenderness, color and oxidative properties of beef. **Meat Science**, [Kidlington], v. 163, p. 108078, May 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174019309118>. Acesso em: 11 out. 2020.

SEDEH, F. M. *et al.* Using gamma irradiation and low temperature on microbial decontamination of red meat in Iran. **Indian Journal of Microbiology**, [New York], v. 47, n. 1, p. 72–76, Mar. 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23100643/>. Acesso em: 03 mar. 2020.

SENTANDREU, M. A.; COULIS, G.; OUALI, A. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. **Trends in Food Science and Technology**, [New York], v. 13, n. 12, p. 400–421, Dec. 2002. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0924224402001887?via%3Dihub>. Acesso em: 16 nov. 2017.

SILVA, J. A. O. **Processos proteolíticos e características sensoriais em carne de bovino da raça Maronesa**: Influência do pH final e tempo de maturação. 2006. 303p. Tese (Doutorado em Ciência Alimentar) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2006.

SLEETH, R. B.; HENRICKSON, R. L.; BRADY, D. E. Effect of controlling environments conditions during aging on the quality of beef. **Food Technology**, [Chicago], p. 205-208, 1957.

SOUZA, A. R. M.; ARTHUR, V.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Efeito da radiação gama e do armazenamento na oxidação lipídica e no colesterol de carne de cordeiros da raça Santa Inês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 67-71, jan./mar. 2007. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?frbrVersion=4&script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612007000100012&lng=en&tlng=en](https://www.scielo.br/scielo.php?frbrVersion=4&script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000100012&lng=en&tlng=en). Acesso em: 23 jan. 2020.

SUMAN, S. P.; JOSEPH, P. Myoglobin chemistry and meat color. **Annual Review of Food Science and Technology**, [United States], v. 4, p. 79–99, Feb. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23190143/>. Acesso em: 01 fev. 2020.

SUZUKI, K. *et al.* Structure, activation, and biology of calpain. **Diabetes**, [Alexandria], v. 53, n. 1, p. S12-S18, Feb. 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14749260/>. Acesso em: 22 nov. 2017.

VITALE, M. *et al.* Effect of aging time in vacuum on tenderness, and color and lipid stability of beef from mature cows during display in high oxygen atmosphere package. **Meat Science**, [Kidlington], v. 96, n. 1, p. 270-277, Jan. 2014. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174013003549?via%3Dihub>. Acesso em: 17 nov. 2017.

WANG, A. *et al.* Changes in calpain activity, protein degradation and microstructure of beef *M. semitendinosus* by the application of ultrasound. **Food Chemistry**, [Kidlington], v. 245, p. 724–730, Apr. 2018. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S030881461731943X?via%3Dihub>. Acesso em: 21 jan. 2020.

WEN, J. **Lipid oxidation in differently aged beef: use of static headspace gas chromatographic and 2-thiobarbituric acid reactive substance methods (TBARS)**. 2013. 30 p. Dissertação (Master's degree Animal Science) - Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden, 2013.

- WHIPPLE, G.*et al.* Evaluation of attributes that affect *longissimus* muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, [Champaign], v. 68, n. 9, p. 2716–2728, Sept. 1990. Disponivelem: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2211401/>. Acessoem: 18 nov. 2017.
- WHITE, A.*et al.* Manipulation of the pre-rigor phase to investigate the significance of proteolysis and sarcomere length in determining the tenderness of bovine *M. longissimus dorsi*. **Meat Science**, [Kidlington], v. 73, n. 2, p. 204–208, June 2006. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174005004109?via%3Dihub>. Acessoem: 18 nov. 2017.
- WILSON, G. D.*et al.* The use of antibiotics and gamma irradiation in the aging of steaks at high temperatures. **Food Technology**, [Chicago], p. 143-147, 1960. Disponivelem: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-use-of-antibiotics-and-gamma-irradiation-in-the-Wilson-Brown/27e7d3f4e46c405acf56f66b271ba54c0a4953bd>. Acessoem: 18 nov. 2017.
- WU, G.; CLERENS, S.; FAROUK, M. M. LC MS/MS identification of large structural from bull muscle and their degradation products during *post mortem* storage. **Food Chemistry**, [Kidlington], v. 150, p. 137–144, May 2014. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814613016075?via%3Dihub>. Acessoem: 25 jan. 2020.
- WYRWISZ, J.*et al.* Influence of 21 days of vacuum-aging on color, bloom development, and WBSF of beef *semimembranosus*. **Meat Science**, [Kidlington], v. 122, p. 48–54, Dec. 2016. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174016302285?via%3Dihub>. Acessoem: 26 jan. 2020.
- XIAO, S. *et al.* Effects of diet, packaging, and irradiation on protein oxidation, lipid oxidation, and color of raw broiler thigh meat during refrigerated storage. **Poultry Science**, [Savoy], v. 90, n. 6, p.1348-1357, June2011. Disponivel em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21597078/>. Acesso em: 26 jan. 2020.
- YANG, H. S. *et al.* Effect of garlic, onion, and their combination on the quality and sensory characteristics of irradiated raw ground beef. **Meat Science**, [Kidlington], v. 89, n. 2, p. 202–208, Oct. 2011. Disponivelem: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174011001562?via%3Dihub>. Acessoem: 25 jan. 2020.
- YIM, D. G.*et al.* Combined effect of irradiation and ageing condition on physicochemical and microbial quality of Hanwoo Eye of Round. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, [Seoul], v. 35, n. 3, p. 406-412, June 2015. Disponivel em: <https://www-ncbi-nlm-nih.ez26.periodicos.capes.gov.br/pmc/articles/PMC4662364/>. Acessoem: 25 jan. 2020.

YOOK, H.-S. *et al.* Effect of gamma irradiation on the microstructure and post-mortem anaerobic metabolism of bovine muscle. **Radiation Physics and Chemistry**, [Kidlington], v. 61, n. 2, p. 163–169, May 2001. Disponivelem:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0969806X00003923>. Acesso em: 05 dez. 2017.

YOON, K. S. Effect of gamma irradiation on the texture and microstructure of chicken breast meat. **Meat Science**, [Kidlington], v. 63, n. 2, p. 273–277, Feb. 2003. Disponivelem:

<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0309174002000785?via%3Dihub>. Acesso em: 05 dez. 2017.

ZABIELSKY, J. *et al.* The effect of irradiation on technological properties and protein solubility of broiler chicken meat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [Chichester], v. 35, n. 6, p. 662–670, June 1984. Disponivel em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2740350612>. Acesso em: 03 dez. 2017.

ZHU, M. J.; MENDONCA, A.; AHN, D. U. Temperature abuse affects the quality of irradiated pork loins. **Meat Science**, [Kidlington], v. 67, n. 4, p. 643-649, Aug. 2004. Disponivelem:

<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S030917400400021X?via%3Dihub>. Acesso em: 20 jan. 2020.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**



**ARTIGO 1:Aplicação de radiação gama na maturação acelerada da carne de bovinos da  
raça Nelore**

*Application of gamma radiation on accelerated aging of beef from Nelore cattle*

Artigo redigido nas normas do periódico

*Meat Science* (ISSN 0309-1740)

## Aplicação de radiação gama na maturação acelerada da carne de bovinos da raça Nelore

### Resumo

Com a necessidade de solucionar a inconsistência da maciez da carne bovinabrasileira, objetivou-se avaliar os efeitos do uso da irradiação gama (3 kGy) sobre a qualidade de contrafilés (*M. Longissimuslumborum*) de animais Nelores, maturados por até 21 dias, sob diferentes temperaturas (1, 7 e 15 °C). A contagem de bactérias mesófilas e do ácido lático foram maiores ( $P < 0,05$ ) na carne maturada a 7 e 15 °C, sem irradiação. A capacidade de retenção de água foi menor ( $P < 0,05$ ), implicando em maiores ( $P < 0,05$ ) purgas e a perda de massa por cozimento nas carnes irradiadas. A irradiação e a elevação da temperatura reduziram ( $P < 0,05$ ) osteores de colágeno insolúvel e total. O uso de altas temperaturas de maturação aumentou ( $P < 0,05$ ) a purga e a proteólise *post mortem* (menor valor de índice de fragmentação -IF) e, logo, reduziu ( $P < 0,05$ ) a força de cisalhamento (FC). Entretanto, a irradiação proporcionou ( $P < 0,05$ ) maior IF e, logo, maior FC. A temperatura de maturação não afetou ( $P > 0,05$ ) os pigmentos relativos à mioglobina e os índices de cor, mas a irradiação proporcionou ( $P < 0,05$ ) menores teores de oximioglobina e valores de luminosidade ( $L^*$ ). Portanto, a irradiação (3 kGy) pode ser usada para garantir a segurança microbiológica ao se realizar a maturação em temperaturas mais elevadas (7 °C) por um curto tempo (7 dias), seguido da maturação convencional, com o intuito de acelerar o processo de amaciamento da carne bovina.

**Palavras-chave:** Temperatura de maturação, microrganismo, proteólise, maciez, cor.

### 1. Introdução

A maciez é um dos fatores mais importantes na percepção da qualidade da carne bovina pelo consumidor, e, geralmente, eles estão dispostos a pagar mais caro por uma carne mais macia. A indústria tem maturado a carne bovinain *natura*, embalada a vácuo e em temperaturas, imediatamente, acima do seu ponto de congelamento (-1 a 1°C), por tempo suficiente (até 3 semanas) para melhorar a sua maciez. Durante a maturação ocorre o aumento da maciez, além do desenvolvimento de um sabor característico, em consequência da degradação da estrutura miofibrilar por proteases endógenas (Haddad et al., 2020; Lee, Sebranek, & Parrish, 1996).

No entanto, o processo de maturação é fortemente influenciado pela raça do animal, sendo que, no Brasil, predomina a carne de zebuínos (*Bos indicus*), que apresenta uma menor proteólise das proteínas miofibrilares associada à alta atividade de calpastatina nos músculos do que as raças de bovinos europeus ou norte-americanos (*Bos taurus*). Dessa forma, as carnes oriundas de zebuínos necessitam de mais tempo de maturação para atingir o mesmo grau de maciez (Aroeira et al., 2016), o que aumenta os custos de produção das indústrias (requerimento de espaço e energia).

Uma alternativa para acelerar o processo de maturação da carne bovina é o uso de altas temperaturas na maturação, o que proporciona a redução do tempo de amaciamento (Dransfield, 1994; Hwang, Park, Cho, & Lee, 2004). O aumento da maciez está relacionado com a degradação acelerada da estrutura muscular pelo aumento da atividade das proteases (calpaínas e catepsinas) na carne, favorecidas por maiores temperaturas de maturação (Hwang, Devine, & Hopkins, 2003). Apesar de as calpaínas serem as principais proteases envolvidas na maturação da carne à temperatura de refrigeração, as catepsinas se tornam mais ativas durante a maturação em altas temperaturas, aumentando assim, a degradação miofibrilar (Hwan & Bandman, 1989; Zeece & Katoh, 2007). Entretanto, temperaturas elevadas também favorecem o desenvolvimento microbiano na carne (Kilgannon, Holman, Mawson, Campbell, Collins, & Hopkins, 2019), tornando quase inviável a sua aplicação no processo de maturação. Porém, o tempo de amaciamento poderia ser encurtado se o problema de segurança microbiana em altas temperaturas pudesse ser resolvido (Lee et al., 1996; Yim, Jo, Kim, Cha, Kim, & Nam, 2015).

O uso combinado da maturação acelerada com altas temperaturas com um método de conservação poderia garantir a segurança microbiana da carne bovina. Desse modo, estudos têm sugido o uso de radiações eletromagnéticas no controle do desenvolvimento microbiano durante a estocagem da carne em temperaturas elevadas, seja utilizando radiações ionizantes, como a radiação gama por isótopos (Wilson, Brown, Chesbro, Ginger, & Weir, 1960), feixes de elétrons (Kim, Yong, Nam, Jung, Yim, & Jo, 2018; Lee et al., 1996; Yim et al., 2015; Yim, Jo, Kim, Seo, & Nam, 2016), raios X (Kim, Yong, et al., 2018) ou radiações não-ionizantes, como os raios ultravioleta (Sleeth, Henrickson, & Brady, 1957). No entanto, a maioria desses estudos foram conduzidos com carnes na fase de pré-rigor, o que é difícil de ser aplicado em escala industrial, devido à necessidade da desossa da carcaça antes da refrigeração. Desse modo, a irradiação de carnes pós-rigor é um processo industrialmente mais promissor.

A radiação gama é considerada uma técnica de conservação segura e eficaz quanto ao aspecto microbiológico (WHO, 1999), mas doses de irradiação acima de 3 kGy reduzem a proteólise *post mortem*, gerando carnes com maiores forças de cisalhamento que aquelas não-irradiadas (Rodrigues et al., 2020). No entanto, o amaciamento favorecido pelo uso de maior temperatura de maturação poderia se sobrepor ao desfavorecimento da atividade enzimática e da maciez pela irradiação da carne, tornando viável o uso sinérgico dessas duas tecnologias. Portanto, considerando que as informações sobre o uso associado dessas tecnologias ainda são limitadas, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do uso de baixa dose de radiação gama (3 kGy) sobre a segurança microbiológica e a qualidade de contrafilés bovinosmaturados em altas temperaturas.

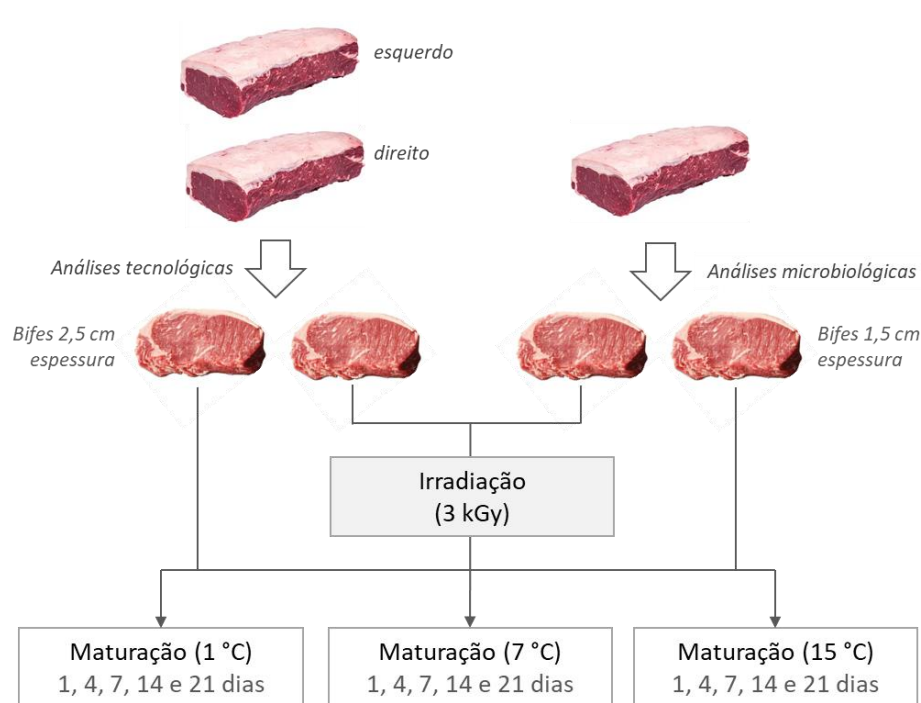
## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Obtenção, irradiação e maturação das amostras**

Contrafilés (*M. Longissimuslumborum*, LL) de 7 bovinos da raça *Nelore* (machos, com idade, sistema de criação e condições de abate semelhantes) foram obtidos 48 horas *post mortem* de um abatedouro frigorífico com Inspeção Federal. Oito contrafilés, esquerdos e direitos, de quatro bovinos foram destinados às análises tecnológicas, enquanto um dos contrafilés (esquerdo ou direito) de três bovinos foram destinados às análises microbiológicas. Os contrafilés refrigerados e embalados a vácuo, devidamente identificados, foram conduzidos, em caixas térmicas, ao Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes), do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Os dois contrafilés de cada animal, para as análises tecnológicas, foram fracionados em 30 bifés de 2,5 cm de espessura, com o auxílio de um molde, enquanto os outros contrafilés, para as análises microbiológicas, foram fracionados em 26 bifés de 1,5 cm de espessura. Os bifés foram individualmente pesados, embalados a vácuo (BS420; R. Baião, Ubá, MG, Brasil) em embalagens de náilon-polietileno (18 µm de espessura) e aleatorizadas em dois grupos, não-irradiadas e irradiadas. As amostras de cada grupo foram acondicionadas em caixas térmicas, contendo gelo, e enviadas ao Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CDTN/CNEN), em Belo Horizonte, MG. A caixa identificada

como “irradiada” foi submetida à uma dose de radiação gama de 3 kGy, em Irradiador Gama IR-214 (MDS Nordion; fonte de cobalto-60 e taxa de 1508,30 Gy/h). A caixa com as amostras “não-irradiadas” foi mantida na parte externa, à temperatura ambiente, do irradiador pelo mesmo período, cerca de 119 minutos, das amostras irradiadas. Após a irradiação, as amostras foram conduzidas ao LabCarnese aleatorizadas nos três tratamentos: maturação convencional, a 1°C; maturação acelerada a 7 °C; e maturação acelerada a 15 °C. A maturação foi conduzida em câmaras climáticas (modelo EL202; EletroLab, Brasil), com temperatura controlada ( $\pm 0,5$  °C) e as amostras coletadas aleatoriamente após 1, 4, 7, 14 e 21 dias. A Figura 1 demonstra a distribuição das amostras nos tratamentos.



**Figura 1.** Esquema ilustrativo da distribuição das amostras nos seis tratamentos (irradiação x temperatura de maturação) avaliados.

## 2.2 Análise microbiológica

Para a contagem de mesófilos totais e bactérias produtoras de ácido lático (BAL), em triplicata, 25 g de carne foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis, adicionadas de 225 mL de água peptonada (0,1%) e homogeneizadas (490 golpes/min), por 5 minutos, em *Stomacher*

(Metroterm, Brasil). Diluições decimais sucessivas foram preparadas usando água peptonadaestétil, sendo as análises microbiológicas conduzidas, segundo Silva, Junqueira, Silveira, Taniwaki, Gomes, e Okazaki (2017).

A contagem dos microrganismos foi feita após a técnica de plaqueamento em profundidade, usando o meio *TrypticaseSoy Agar* (TSA), com incubação a 37 °C/48 h para análise de mesófilos, e ágar *Man, Rogosa & Sharpe* (MRS), com sobrecamada e incubação a 30 °C/48h para quantificação de BAL, sendo expressa em logaritmo de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama (log UFC/g).

### 2.3 pH e perdas de água

Os bifes maturados foram removidos da embalagem, secos com papel toalha e, novamente, pesados para a determinação da purga, obtida pela diferença de massa dos bifes antes e depois da embalagem a vácuo e expressa em porcentagem do peso inicial. O pH foi obtido inserindo o eletrodo do pHmetro portátil (Testo 206-pH2; Testo do Brasil, Campinas, SP, Brasil) em três diferentes pontos do bife.

A avaliação da capacidade de retenção de água (CRA) das amostras foi conduzida pelo método de pressão em papel filtro (MPPF), descrito por Aroeira et al. (2016), pressionando-se aproximadamente 300 mg de carne por 5 minutos, com um peso de 5 kg. Após a prensagem, as áreas delimitadas pela carne prensada (Ac) e pelo líquido exsudado (Ae) no papel de filtro foram obtidas, por meio do software *ImageJ*® 1.42q (*National Institute of Health, USA*), e a CRA foi expressa como a razão Ac/Ae.

A perda de massa por cozimento (PMC) foi determinada segundo Rodrigues et al. (2020). Uma amostra retangular (8,0 x 4,0 x 2,5 cm) foi obtida de cada bife, pesada, embalada a vácuo (BS420; R. Baião, Ubá, MG, Brasil) e cozida em banho-maria a 80 °C, até a temperatura interna de 71 °C (monitorada por um termômetro digital, inserido no centro da amostra). Após o cozimento, as amostras foram refrigeradas (4 °C) por 24 horas e novamente pesadas. A PMC foi determinada pela diferença de massa dos bifes antes e depois do cozimento e expresso em porcentagem do peso inicial.

## 2.4 Teor de colágeno e fragmentação miofibrilar

As frações solúveis e insolúveis do colágeno foram separadas após aquecimento a 77 °C, por 70 minutos, e o teor de colágeno (mg/g) foi quantificado pela determinação do aminoácido hidroxiprolina (Bergman & Loxley, 1963), utilizando os fatores 7,52 para a fração solúvel e 7,25 para a fração insolúvel (Cross, Carpenter, & Smith, 1973). O teor de colágeno total foi obtido pela soma das frações solúvel e insolúvel e o percentual de colágeno solúvel, calculado em relação ao teor de colágeno total.

O grau de fragmentação miofibrilar foi determinado pelo índice de fragmentação (IF), descrito por Aroeira et al. (2020), aferindo-se o peso dos fragmentos retidos após homogeneização (15.000 RPM em Turratec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil) de 5 g de amostra, em 50 mL de solução de extração (sacarose 0,25 M e KCl 2 mM) refrigerada (4 °C) e filtração a vácuo (NOF-650; New Pump, São Paulo, Brazil), em tela de náilon de 250 µm. Os resultados foram expressos como o peso (em g) dos fragmentos retido na tela (após 10 minutos à temperatura ambiente) × 100. Menores valores indicam maior fragmentação proteolítica da carne.

## 2.5 Eletroforese em gel de sódio dodecil sulfato-poliacrilamida (SDS-PAGE)

A fração de proteína miofibrilar foi separada de acordo com Li et al. (2014). Cerca de 4 g de amostra foram homogeneizadas (Turratec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil) com 40 mL de tampão de extração (Tris-HCl 50 mM, pH 7,0, KCl 100 mM e EDTA 5 mM), refrigerado (4 °C) por 2 minutos. O homogenato a 4 °C, foi centrifugado a 1.000g, por 15 minutos e, por mais quatro vezes, o sobrenadante foi descartado e o *pelleta* a 4 °C, foi ressuspenso em 20 mL de tampão de extração e novamente centrifugado a 1.000 g, por 15 minutos. Por fim, o *pellet* (fração de proteína miofibrilar) foi ressuspenso em 20 mL de tampão de extração e a concentração de proteína foi determinada pelo método de Biureto (Ramos & Gomide, 2017). As amostras foram diluídas para 2 mg/mL em tampão desnaturante/corante (*tracking dye*; Tris-HCl 62,5 mM, pH 6,8, glicerol 10%, SDS 2%, 2-mercaptoetanol 5% e azul de bromofenol 0,02%) para SDS-PAGE. As amostras foram, imediatamente, desnaturadas em banho-maria, a 95 °C, por 5 minutos, resfriadas e armazenadas a -20 °C até a análise.

Cerca de 20 µg da amostra de proteína miofibrilar desnaturada foram aplicadas em géis de SDS-poliacrilamida 10%, com uma proporção de acrilamida:bisacrilamida de 29:1. O gel foi corrido em solução Tris-Base 25 mM (contendo glicina 250 mM, EDTA 1mM e SDS 10%), em uma voltagem constante de 30 V, até as proteínas atingirem o gel de separação, quando a voltagem foi aumentada para 100 V e mantida até as proteínas atingirem o final do gel (Mini-PROTEAN® Tetra Cell System; Bio-Rad Laboratórios Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil). SigmaMarker™ (200 kDa a 6,5 kDa; Sigma-Aldrich Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil) foi utilizado como marcador de peso molecular. Após a corrida, os géis foram mantidos em uma solução fixadora (metanol 48% e ácido tricloroacético 10%) por 24 horas e transferidos para solução corante (metanol 50%, ácido acético 10% e corante *Comassie Brilliant Blue* R250 0,25%) por mais 24 horas. Os géis foram, então, transferidos para uma solução descorante (metanol 30% e ácido acético 7%) por 24 horas, removidos e fotografados para posterior análise.

## 2.6 Força de cisalhamento

A força de cisalhamento foi determinada pelo método *Warner-BratzlersquareShear Force* (WBsSF), proposto por Silva, Torres Filho, Cazedey, Fontes, Ramos, e Ramos (2015) nas amostras provenientes da PMC (item 2.3). Seis seções cubóides (1,0 x 1,0 x 2,5 cm) foram obtidas, no sentido das fibras musculares, e cisalhadas transversalmente (a 3,33 mm/s) por uma lâmina tipo *Warner-Bratzler*, acoplada a texturômetro TA.XTplus (*Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, UK*). A média da força máxima (N) mensurada para cisalhar as seis seções cubóides foi calculada.

## 2.7 Pigmentos relativos da mioglobina e cor instrumental

As formas químicas da mioglobina e os índices de cor instrumental (CIELAB) das amostras foram determinados no colorímetro espectrofotométrico modelo CM-700 (*Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japão*), com porta de abertura de 8 mm, iluminante A, ângulo de 10° para o observador e em ambos os modos de reflectância especular excluída (SCE) e incluída (SCI). Ao serem removidos das embalagens, os bifos foram expostos ao ar atmosférico por 30 minutos para oxigenação (*blooming*) e a análise de cor foi conduzida por meio de cinco medições em



diferentes pontos da superfície. As proporções das formas químicas da mioglobina foram estimadas pelo método matemático de Krzywicki (1979) nas curvas de reflectância entre 400 a 730 nm (intervalo de 10 nm), obtidas no modo SCI. Os valores intermediários de reflectância (473, 525 e 572 nm) foram determinados por interpolação linear para o cálculo da proporção de oximioglobina (OMb), deoximioglobina (DMb) e metamioglobina (MMb). A luminosidade ( $L^*$ ), os índices de vermelho ( $a^*$ ) e amarelo ( $b^*$ ), a saturação ( $C^*$ ) e o ângulo de tonalidade ( $h$ ) das amostras foram registradas a partir das leituras conduzidas no modo SCE.

## 2.8 Análise estatística

O experimento foi disposto em um delineamento em blocos casualizados (DBC), em que o bloco foi constituído por cada animal (4 repetições para as análises tecnológicas e 3 repetições para as análises microbiológicas), em um esquema de parcela subdividida, com o fatorial 2 (irradiado e não-irradiado) x 3 (temperaturas de maturação) na parcela e os tempos de maturação na sub-parcela. Os dados foram submetidos à ANOVA e, se necessário, ao teste de Tukey, com nível de significância de 5%, no *software* Statistica® 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Avaliação microbiológica

Houve ( $P < 0,05$ ) interação tripla (irradiação x temperatura de maturação x tempo de maturação; Tabela 1) para a contagem de bactérias mesófilas e de bactérias do ácido lático (BAL), sendo essas interações decompostas nas Figuras 2 e 3. De forma geral, observa-se um comportamento semelhante para ambos os grupos de microrganismos em função dos tratamentos. Como esperado, houve uma maior ( $P < 0,05$ ) população microbiana nas amostras maturadas em maiores temperaturas, já a partir do quarto dia de maturação. Além disso, a população microbiana também foi maior ( $P < 0,05$ ) nas amostras não-irradiadas que nas irradiadas, independentemente da temperatura da maturação.

**Tabela 1.** Efeitos da irradiação (I) e da temperatura (T) e tempo (D) de maturação na multiplicação bacteriana ( $n = 90$ ) e nos valores de pH e perdas de água ( $n = 116^*$ ) em músculos (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça Nelore.

Efeitos	Fonte de Variação	Mesófilos (log UFC/g)	BAL (log UFC/g)	pH	Purga (%)	CRA	PMC (%)
Irradiação (I), kGy	0 (não-irradiado)	5,64	5,28	5,65	3,98 <sup>x</sup>	0,32 <sup>x</sup>	28,07 <sup>x</sup>
	3	2,95	3,33	5,67	5,24 <sup>y</sup>	0,28 <sup>y</sup>	29,59 <sup>y</sup>
Temperatura de Maturação (T), °C	1	2,74	2,91	5,68	4,03 <sup>b</sup>	0,30	28,76
	7	4,76	4,66	5,67	4,72 <sup>a</sup>	0,31	28,55
	15	5,39	5,33	5,64	5,19 <sup>a</sup>	0,29	29,29
Tempo de Maturação (D), dias	1	1,95	1,48	5,69	3,68 <sup>c</sup>	0,31 <sup>b</sup>	27,47 <sup>b</sup>
	4	3,59	3,09	5,65	4,52 <sup>b</sup>	0,34 <sup>ab</sup>	29,88 <sup>a</sup>
	7	4,41	4,57	5,67	4,86 <sup>ab</sup>	0,37 <sup>a</sup>	28,93 <sup>a</sup>
	14	5,39	5,98	5,66	5,04 <sup>a</sup>	0,26 <sup>c</sup>	28,74 <sup>a</sup>
	21	6,14	6,39	5,63	5,14 <sup>a</sup>	0,22 <sup>d</sup>	29,32 <sup>a</sup>
	EPM	0,37	0,33	0,03	0,14	0,02	0,25
$Pr > F^l$	I	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,015</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,006</b>	<b>0,002</b>
	T	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,010</b>	0,253	0,474
	D	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,025</b>
	IxT	<b>0,002</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,008</b>	0,409	0,889	0,941
	IXD	0,074	<b>&lt;0,001</b>	0,279	0,842	0,502	0,287
	TxD	<b>0,003</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,016</b>	0,753	0,870	0,677
	IxTxD	<b>0,041</b>	<b>0,004</b>	0,158	0,978	0,171	0,311

BAL = Bactérias lácticas; CRA = capacidade de retenção de água; PMC = perda de massa no cozimento; e EPM = erro padrão da média.

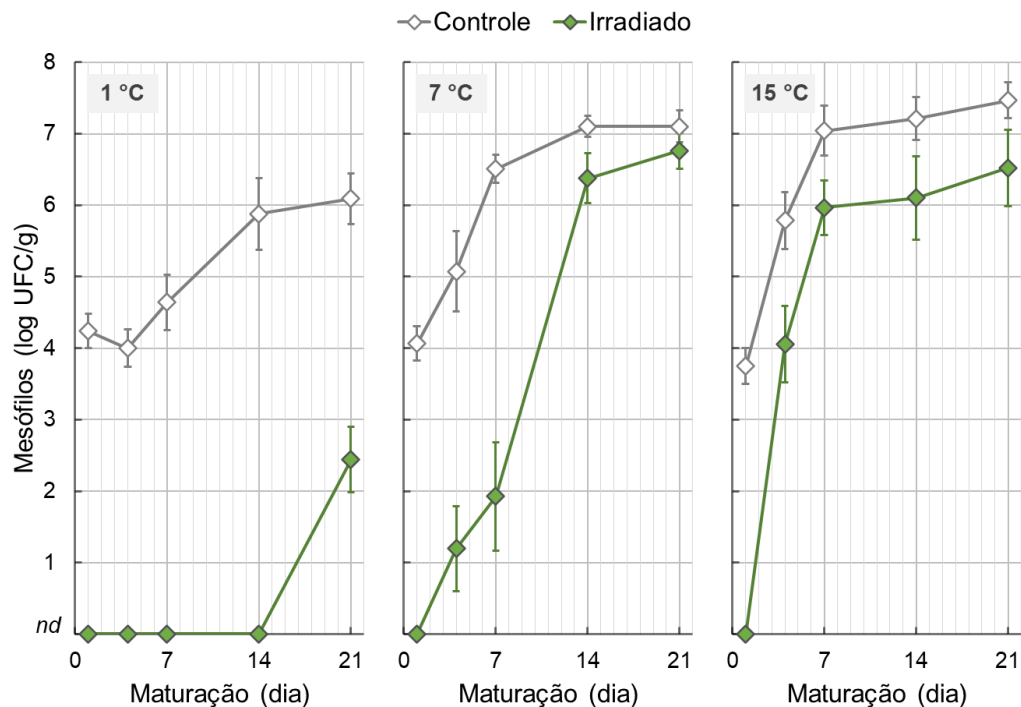
\*As análises tecnológicas das amostras não-irradiadas e maturadas a 15 °C não foram realizadas no dia 21, por já se encontrarem deterioradas.

<sup>l</sup> Probabilidades significativas ( $P < 0,05$ ) foram destacadas em negrito.

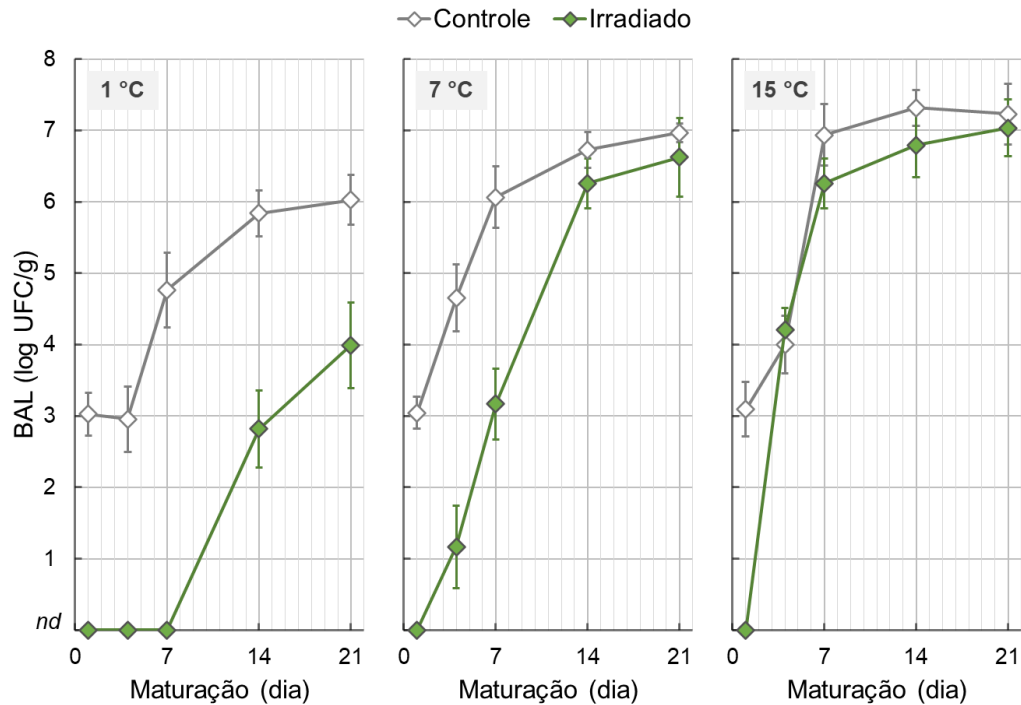
<sup>x,y</sup> Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste F, para as doses de irradiação.

<sup>a-c</sup> Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey, para os fatores temperatura e tempo de maturação.

Nenhum dos microrganismos foi recuperado (limite de detecção de 1 log UFC/g) nas amostras irradiadas após o primeiro dia de maturação. O processo de irradiação atua inativando os microrganismos de forma direta, pela absorção da energia da radiação, e/ou de forma indireta, pela ação dos radicais livres ( $\text{OH}\cdot$ ,  $\text{H}\cdot$  e  $\text{e}_{\text{aq}}^-$ ), produzidos pela radiólise da molécula de água ou pela formação de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), que é um eficaz agente antimicrobiano. Os radicais livres, juntamente com o  $\text{H}_2\text{O}_2$ , causam danos nas paredes celulares e no DNA das bactérias, podendo causar mau funcionamento dos microrganismos (Mañas & Pagán, 2005). Após o primeiro dia de maturação, as células microbianas se recuperaram, especialmente, nas temperaturas maiores (7 e 15 °C), retomando a mesma taxa de crescimento dos microrganismos não submetidos à irradiação. Lee et al. (1996), também relataram uma grande redução na contagem de bactérias no primeiro dia após a irradiação (2 kGy) por feixe de elétrons, mas, posteriormente, as contagens aumentaram nas amostras mantidas em atmosfera modificada e maturadas em altas temperaturas (15 e 30 °C).



**Fig. 2.** Efeito da irradiação (3 kGy) e da temperatura de maturação (1, 7 e 15 °C) sobre a contagem de bactérias mesófilas (log UFC/g) na carne (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça *Nelore*, durante o tempo de maturação. nd = não detectado. As barras representam o erro padrão da média.



**Fig. 3.** Efeito da irradiação (3 kGy) e da temperatura de maturação (1, 7 e 15 °C) sobre a contagem de bactérias do ácido lático (BAL, log UFC/g) nacarne (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça *Nelore*, durante o tempo de maturação. nd = não detectado. As barras representam o erro padrão da média.

A multiplicação de bactérias mesófilas está relacionada com a qualidade da carne, sendo recomendado, um limite máximo de aceitabilidade de 7 log UFC/g para carnes *in natura*, pela Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMFS, 1986). Este limite foi alcançado apenas nas amostras não-irradiadas, mantidas à altas temperaturas (Figura 2): após 14 dias, a 7 °C; e após 7 dias, a 15°C. A irradiação, a 3 kGy, promoveu uma redução de, aproximadamente, quatro ciclos log na contagem inicial de mesófilos, o que, além de estender a vida útil dos contrafilés maturados à altas temperaturas para próximo de 21 dias, permitiu uma extensão ainda maior da vida útil dos contrafilés maturados a 1 °C. A contagem nos contrafilés irradiados no 21º dia, foi quase cem vezes (dois logs) menor que a contagem inicial nas amostras não-irradiadas após o primeiro dia de maturação a 1 °C. Kim, Yong, et al. (2018) relataram uma redução de 1,4 log UFC/g (por feixe de elétrons) e 2,1 log UFC/g (por raios X) na contagem de

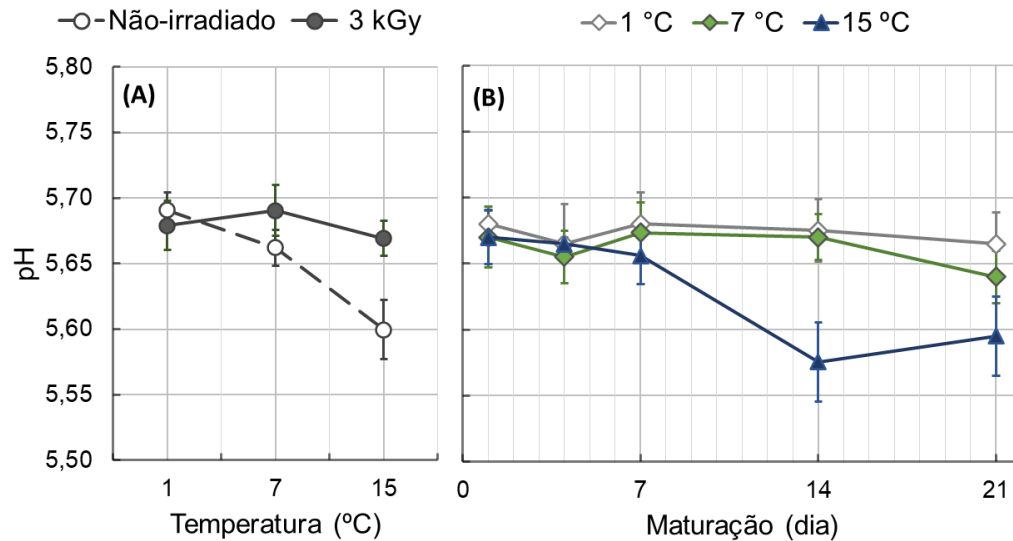
bactérias aeróbias, após a irradiação (5 kGy) de carnes bovinas pré-rigor. Já Yim et al. (2016) reportaram uma pequena redução ( $< 1$  log) na contagem de bactérias aeróbias totais em carnes bovinas irradiadas por feixe de elétrons a 2 kGy.

Entretanto, a BAL foi mais resistente à irradiação, se recuperando mais rapidamente que os mesófilos, principalmente, nas amostras maturadas a 15 °C (Figura 3). Isto, condiz com a observação de Lee et al. (1996), de que a BAL é, relativamente resistente à irradiação, sendo relatado que, a BAL se prolifera rapidamente nas amostras irradiadas (2 kGy) e maturadas à alta temperatura (15 e 30 °C). Segundo estes autores, em certas condições, as BALs se multiplicam e provocam a deterioração antes de outros microrganismos, ajudando a evitar o desenvolvimento de patógenos, como o *Clostridium botulinum*, e logo, a produção de sua toxina.

De forma geral, considerando o limite de 7 log UFC/g, a irradiação, além de estender a vida útil dos contrafilés maturados em temperaturas de 7 e 15 °C para próximo de 21 dias, permitiu uma extensão ainda maior da vida útil dos contrafilés maturados a 1 °C. Por se encontrar totalmente deterioradas (coloração esverdeada, presença de limo e forte odor), os dados das amostras não-irradiadas e maturadas a 15 °C, por 21 dias, não foram coletados para as análises físico-químicas e tecnológicas.

### 3.2. pH e perdas de água

O pH foi afetado ( $P < 0,05$ ) pelas interações irradiação x temperatura de maturação e temperatura de maturação x tempo de maturação (Tabela 1). O pH das carnes irradiadas não foi afetado ( $P > 0,05$ ) pela temperatura de maturação, mas o aumento da temperatura de maturação proporcionou uma redução do pH nas amostras não-irradiadas (Figura 4A). Essa maior acidificação é coerente com o maior desenvolvimento de BAL nas amostras não-irradiadas (Figura 3). Segundo Kilgannon et al. (2019) e Lee et al. (1996), o aumento de BAL está, diretamente, relacionado com o declínio do pH da carne maturada à altas temperaturas. Isso, também explica a redução ( $P < 0,05$ ) observada nos valores de pH no 14º dia, nas amostras maturadas a 15 °C e no 21º dia, nas amostras maturadas a 7 °C (Figura 4B). Por outro lado, o pH não se alterou ( $P > 0,05$ ) ao longo de todo o tempo de maturação a 1 °C.



**Figura 4.** Efeito das interações (A) irradiação x temperatura de maturação e (B) temperatura x tempo de maturação sobre os valores de pH da carne (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça Nelore. As barras representam o erro padrão da média. Dados do 21º dia das amostras não-irradiadas e maturadas a 15 °C não foram obtidos, por já se encontrarem deterioradas.

A perda por exsudação (purga) foi afetada ( $P < 0,05$ ) pela irradiação, pela temperatura e pelo tempo de maturação. No entanto, a capacidade de retenção de água (CRA) e a perda de massa no cozimento (PMC) foram afetadas ( $P < 0,05$ ) apenas pela irradiação e pelo tempo de maturação (Tabela 1).

Maiores purgase PMC foram observadas ( $P < 0,05$ ) nas amostras irradiadas (3 kGy), o que condiz com asua ( $P < 0,05$ ) menor CRA. Alterações na CRA e, logo, na purga e na PMC podem ser oriundas de danos na estrutura da membrana das fibras musculares ou na desnaturação das proteínas, principalmenteas miofibrilares, causados pela produção de radicais livres, gerados pela radiólise das moléculas de água (Kanatt, Chander, & Sharma, 2005). Em especial, a redução da CRA e a maior purga podem estar relacionadas à menor degradação das proteínas citoesqueléticas do músculo (menor proteólise), causada pelo processo de irradiação (Rodrigues et al., 2020), impedindo o aumento do diâmetro das fibras musculares e, assim, reduzindo a capacidade de reter a água expelida pelas miofibrilas (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005). Maior purga pela aplicação da radiação gama, também foi relatada por outros autores, para doses de até 3 kGy (Chen, Zhou, Zhu, Xu, Tang, & Gao, 2007),bem como para doses ainda maiores, até 9

kGy(Rodrigues et al., 2020). Da mesma forma, a redução da CRA e o aumento da PMC pela irradiação, também foram comprovados por outros estudos (Kanatt et al., 2005; Rodrigues et al., 2020).

A temperatura de maturação afetou apenas a purga, sendo maior nas amostras maturadas a 7 e 15 °C, do que naquelas a 1°C (Tabela 1). O mecanismo exato pelo qual o aumento da temperatura de maturação eleva a perda de exsudados da carne, ainda não está completamente elucidado. Hertog-Meischke, Smulders, e van Logtestijn (1998) observaram que a perda por gotejamento (*driploss*) de músculos (*L. thoracis* e *semimembranosus*) bovinos maturados, por três dias, tornou-se maior com o aumento da temperatura de armazenamento (até 10 °C). Esses autores sugeriram que a temperatura de armazenamento provoca um aumento na quantidade de gotejamento, provavelmente, em decorrência da diminuição da viscosidade do exsudado da carne.

Em temperaturas mais altas, a viscosidade é menor, resultando em uma maior taxa de migração do exsudado pelos “canais de gotejamento”, dentro e entre os músculos. O aumento na quantidade de gotejamento observado por estes autores foi, no entanto, menor com o aumento da temperatura de armazenamento (não havendo diferenças em temperaturas acima de 7-8 °C), o que explica a ausência de diferença entre as amostras armazenadas a 7 e 15 °C neste experimento. Além da mudança na viscosidade, é provável que as maiores purgas também sejam devido a uma certa desnaturação das proteínas da carne, resultante dos menores valores de pH em combinação com as maiores temperaturas, ou mesmo da maior degradação enzimática observada em altas temperaturas (discutido no item 3.4).

A purga aumentou ( $P < 0,05$ ) com o tempo de maturação, o que condiz com a redução da CRA nos últimos tempos de armazenamento (após 14 dias). O aumento da purga, já nos primeiros dias de maturação, ocorre por causa da pressão negativa exercida pela embalagem a vácuo sobre a carne, ocasionando a liberação gradual da água presente dos espaços intracelulares para os extracelulares, pelos canais de gotejamento formados (Aroeira et al., 2016). Como esperado, aumentos nos valores de purga e de PMC da carne bovina com o tempo de maturação, também foram reportados por outros autores (Aroeira et al., 2017; Colle et al., 2015; Rodrigues et al., 2020).

Por fim, o tempo de maturação afetou ( $P < 0,05$ ) a CRA, sendo que a CRA foi maior nas amostras maturadas por até uma semana (1, 4 e 7 dias). Entretanto, a CRA reduziu no 14° e 21°

dia de maturação (Tabela 1). O aumento da CRA até 7º dia de maturação era esperado, estando relacionado com as ligações costômericas, pois quando as proteínas do citoesqueleto e filamentos intermediários não estão mais intactas e os costômeros são degradados no *post-mortem*, o encolhimento das miofibrilas não é levado para a célula inteira (aumento de volume) e postula-se que a água permaneça na célula do músculo (Hughes, Oiseth, Purslow, & Warner, 2014), explicado assim o aumento da CRA da carne no início da maturação.

No entanto, houve a redução da CRA no 14º e 21º dia, o que pode estar relacionada à diferentes alterações bioquímicas, que ocorrem durante a maturação *post mortem*, como a proteólise, a ativação de inibidores de protease e a oxidação de proteínas. Elas podem afetar a degradação das proteínas miofibrilares que estão relacionadas com o CRA e a maciez da carne (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005). No entanto, Aroeira et al. (2016) reportaram um aumento significativo na CRA na carne bovina (músculo *Longissimuslumborum*) somente após 21 dias de armazenamento.

### 3.3. Teor de colágeno

Os teores de colágeno total e suas frações não foram afetados ( $P > 0,05$ ) por nenhuma das interações (Tabela 2). No entanto, houve uma redução ( $P < 0,05$ ) nos teores de colágeno total e insolúvel com o aumento da temperatura de maturação e pode estar associada a uma maior degradação da carne, por enzimas com alta atividade colagenolítica, como as enzimas lisossomais (catepsinas), cuja atividade é favorecida em altas temperaturas (Hwan & Bandman, 1989; Zeece & Katoh, 2007). Contudo, não ( $P > 0,05$ ) foi observado o efeito da temperatura de maturação sobre o teor e o percentual de colágeno solúvel.

O teor de colágeno total aumentou ( $P < 0,05$ ) após 21 dias de maturação, independentemente da temperatura de maturação. Isso pode ter ocorrido em razão das maiores perdas de exsudato (purga) ao final da maturação, concentrando os solutos, pois, embora o teor de colágeno insolúvel não tenha ( $P > 0,05$ ) alterado, o teor de colágeno solúvel e o seu percentual em relação ao colágeno total, também aumentaram ( $P < 0,05$ ) com 21 dias de maturação. Isso ainda é coerente com a ação das enzimas catepsinas durante a proteólise *post mortem*.



### **3.4 Fragmentação miofibrilar**

O índice de fragmentação (IF) foi afetado ( $P < 0,05$ ) por todas as três interações duplas entre irradiação, temperatura e tempo de maturação (Tabela 2).

**Tabela 2.** Efeitos da irradiação (I) e da temperatura (T) e tempo (D) de maturação nos teores de colágeno, índice de fragmentação (IF) e força de cisalhamento (FC) em músculos (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça Nelore ( $n = 116$ )\*.

Efeitos	Fonte de Variação	Colágeno total (mg/g)	Colágenoinsolúvel (mg/g)	Colágenosolúvel (mg/g)	Colágenosolúvel (%)	Índice de fragmentação	Força de cisalhamento (N)
Irradiação (I),kGy	0 (não-irradiado)	1,85	1,57	0,28	15,48	379	61,37
	3	2,03	1,71	0,32	16,25	446	68,04
Temperatura de Maturação (T), °C	1	2,17 <sup>x</sup>	1,86 <sup>x</sup>	0,31	15,06	441	70,52
	7	1,88 <sup>y</sup>	1,58 <sup>y</sup>	0,30	15,71	398	62,33
	15	1,76 <sup>y</sup>	1,45 <sup>y</sup>	0,31	16,96	400	61,26
Tempo de Maturação (D), dias	1	1,67 <sup>b</sup>	1,41	0,26 <sup>b</sup>	16,24 <sup>b</sup>	461	76,13
	4	1,93 <sup>b</sup>	1,71	0,23 <sup>b</sup>	12,81 <sup>b</sup>	441	74,02
	7	1,90 <sup>b</sup>	1,62	0,28 <sup>b</sup>	15,56 <sup>b</sup>	423	69,05
	14	1,92 <sup>b</sup>	1,68	0,24 <sup>b</sup>	12,65 <sup>b</sup>	378	54,06
	21	2,34 <sup>a</sup>	1,79	0,55 <sup>a</sup>	23,36 <sup>a</sup>	354	48,07
	EPM	0,07	0,06	0,03	0,71	8	1,58
<i>Pr&gt;F<sup>l</sup></i>	I	0,162	0,128	0,883	0,671	<0,001	<0,001
	T	<b>0,005</b>	<b>0,004</b>	0,643	0,117	<0,001	<0,001
	D	<b>0,005</b>	0,128	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<0,001	<0,001
	IxT	0,087	0,064	0,263	0,081	<b>0,013</b>	0,318
	IXD	0,864	0,630	0,558	0,267	<b>0,015</b>	<b>0,049</b>
	TxD	0,670	0,526	0,333	0,167	<b>0,020</b>	<b>0,003</b>
	IxD	0,101	0,053	0,900	0,496	0,766	0,953
	IxD	0,101	0,053	0,900	0,496	0,766	0,953

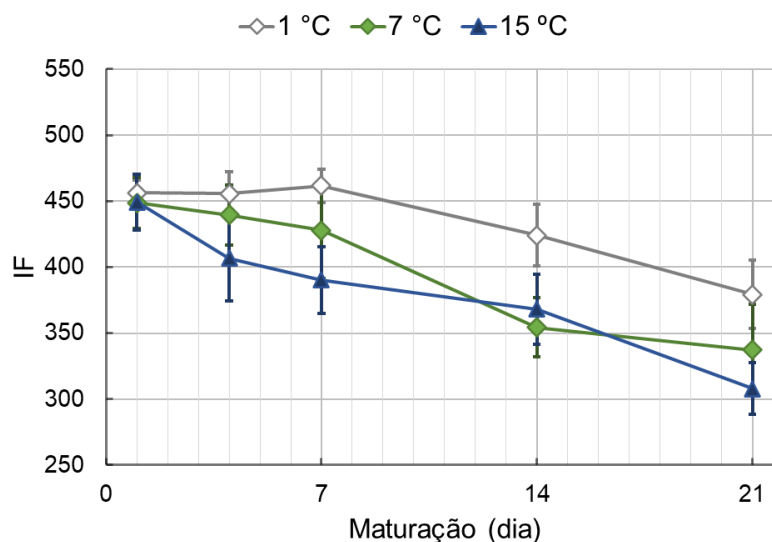
EPM = erro padrão da média.

\*As análises tecnológicas das amostras não-irradiadas e maturadas a 15 °C não foram realizadas no dia 21, por já se encontrarem deterioradas.

<sup>l</sup> Probabilidades significativas ( $P < 0,05$ ) foram marcadas em negrito.

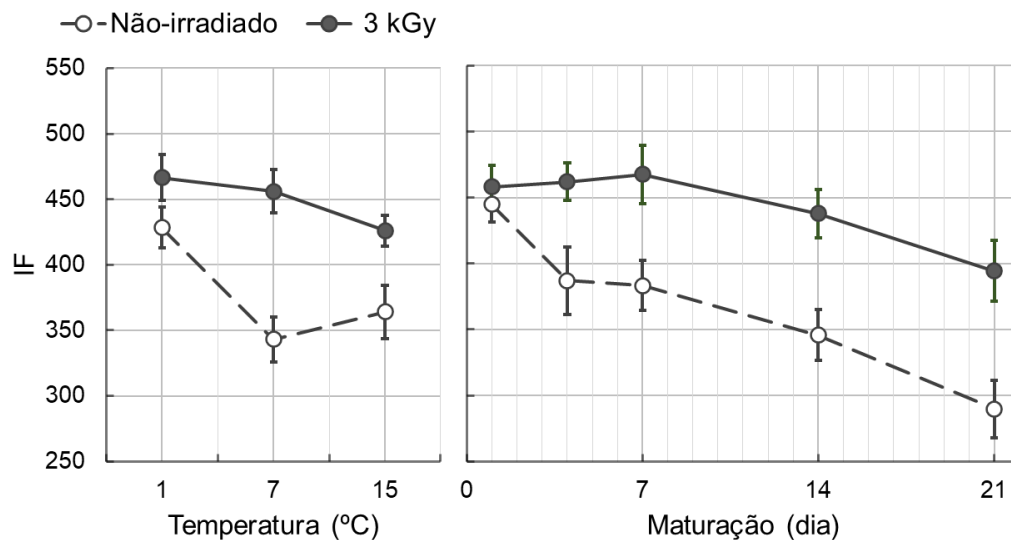
<sup>a-b</sup> Médias seguidas por letras diferentes, na coluna dentro do tempo de maturação, diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Os efeitos da interação, temperatura x tempo de maturação, foram decompostos na Figura 5, sendo que uma maior taxa de fragmentação (maior queda nos valores de IF) foi observada nas amostras maturadas em altas temperaturas (7 e 15 °C). O aumento da fragmentação miofibrilar, durante o período de maturação sob refrigeração, é devido à degradação/ruptura da estrutura miofibrilar pelos sistemas proteolíticos naturais da carne (calpaínas e catepsinas) (Dransfield, 1992; Koohmaraie & Geesink, 2006). Assim, a maior taxa de fragmentação nas amostras maturadas em altas temperaturas (7 e 15 °C) pode ser atribuída a maior atividade das proteases, principalmente as calpaínas, favorecidas em altas temperaturas de armazenamento (Hwan & Bandman, 1989; Hwang et al., 2003). Geesink, Bekhit, and Bickerstaffe (2000) demonstraram que a manutenção de músculos pré-rigor de ovinos em altas temperaturas (até 35 °C) induziu uma maior ativação da  $\mu$ -calpaína, resultando em maior degradação da calpastatina e das proteínas miofibrilares. Lee et al. (1996), também relataram maior fragmentação miofibrilar na carne bovina, quando submetidas às temperaturas mais elevadas de maturação (2, 15 e 30 °C).



**Figura 5.** Efeito da temperatura de maturação (1, 7 e 15 °C) sobre os valores de índice de fragmentação (IF) da carne (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça *Nelore*, durante o período de maturação. As barras representam o erro padrão da média. Dados do 21º dia das amostras não-irradiadas e maturadas a 15 °C não foram obtidos, por já se encontrarem deterioradas.

No entanto, a aplicação da irradiação gama reduziu a proteólise *post mortem*, mesmo nas carnes maturadas à temperaturas mais elevadas (Figura 6). Maior IF foi observado ( $P < 0,05$ ) nas amostras irradiadas (3 kGy) que nas amostras não-irradiadas, independentemente da temperatura de maturação (Figura 7A). Da mesma forma, houve uma menor redução ( $P < 0,05$ ) do IF com o tempo de maturação nas amostras irradiadas, do que nas amostras não-irradiadas (Figura 7B). A irradiação pode causar a redução da proteólise *post mortem* por inibir ou reduzir a ação das proteases naturais, em particularmente das calpaínas (Rodrigues et al., 2020; Rowe, Maddock, Lonergan, & Huff-Lonergan, 2004). Rowe et al. (2004) observaram que a irradiação (6,4 kGy) reduziu a autólise, a atividade da  $\mu$ -calpaína e a taxa de inativação da calpastatina, enquanto a m-calpaína não foi afetada, reduzindo a extensão da proteólise na carne bovina. Segundo esses autores, a formação de radicais livres, oriundos da radiólise da molécula de água, interfere nos resíduos de histidina e de cisteína do sítio ativo das proteases do sistema de calpaínas, levando à constituição de ligações intra ou intermoleculares que, embora não inibam totalmente sua ação, promovem a redução da sua atividade enzimática.

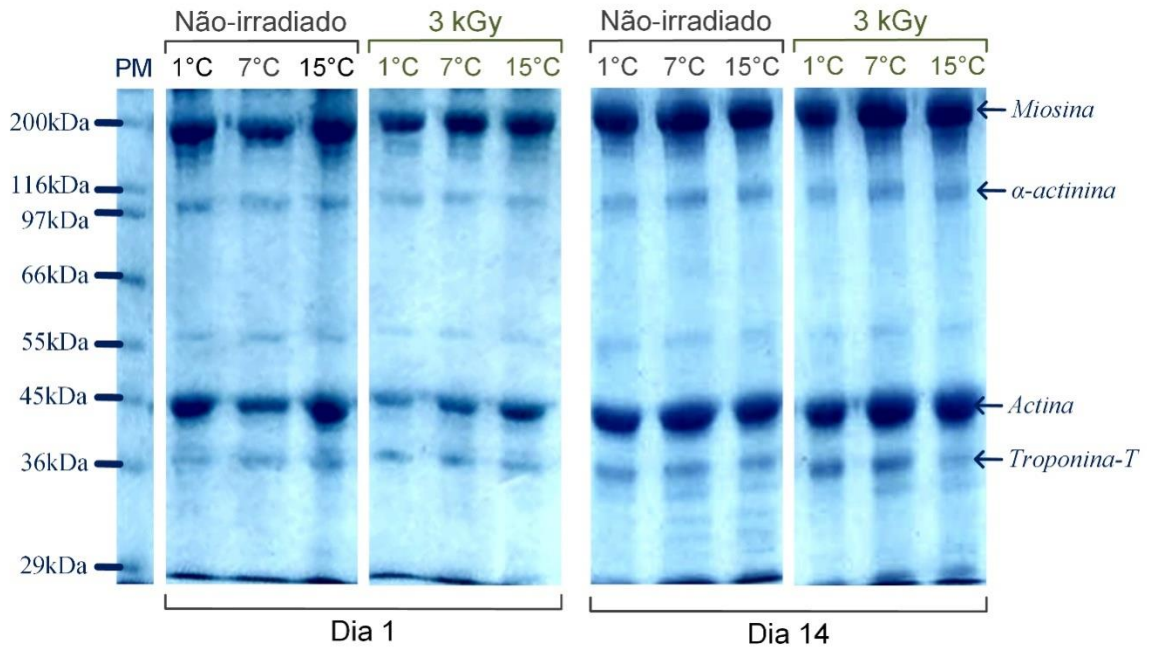


**Figura 6.** Efeito das interações (A) irradiação x temperatura de maturação e (B) irradiação x tempo de maturação sobre os índices de fragmentação (IF) da carne (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça *Nelore*. As barras representam o erro padrão da média. Dados do 21º dia das amostras não-irradiadas e maturadas a 15 °C não foram obtidos, por já se encontrarem deterioradas.

O uso da irradiação gama (3 a 9 kGy) em carnes bovinas reduz a fragmentação miofibrilar (Rodrigues et al., 2020), e até mesmo a maior proteólise, geralmente, observada na maturação de carnes previamente congeladas, também é neutralizada pela irradiação (Sales et al., 2020). Kim, Yong, et al. (2018) não observaram o efeito da irradiação (5 kGy) por feixes de elétrons ou por raios X sobre a fragmentação miofibrilar de músculo *semimembranosus* bovino pré-rigor. Entretanto, estes autores também observaram que carnes maturadas a 14 °C, tinham maior fragmentação miofibrilar que a 4 °C.

No perfil representativo das proteínas miofibrilares, representado na Figura 7, observa-se o surgimento de bandas de polipeptídios com peso molecular (PM) próximos a 30 kDa na carne não-irradiada maturada a altas temperaturas (7 e 15°C), por 14 dias. Bandas com PM de 27-30 kDa aparecem gradualmente, devido à degradação da troponina-T (PM ~ 36 kDa), pela ação das calpaínas durante a maturação (Huff-Lonergan, Mitsuhashi, Beekman, Parrish, Olson, & Robson, 1996), o que tem sido utilizado como indicador do amaciamento da carne. Segundo Ouali (1992), a incubação de miofibrilas com catepsinas conduz ao aparecimento apenas de polipeptídios de 27 kDa, mas não de 30 kDa, enquanto as calpaínas originam ambos os polipeptídios de 27 e 30 kDa. Hertog-Meischke et al. (1998), também relataram o desaparecimento da banda da Troponina-T e, logo, o aumento na intensidade da banda de 30 kDa com maiores temperaturas de maturação (7 e 10 °C) de contrafilés bovinos, indicando que elas resultaram em uma maturação mais rápida que as temperaturas convencionais (1 e 3 °C).

Uma maior intensidade das bandas de polipeptídios na faixa de 36 a 45 kDa, também é observada nas amostras maturadas por 14 dias, principalmente, à altas temperaturas. Huff-Lonergan et al. (1996), também correlacionaram o aumento na intensidade de bandas entre 36 e 45 kDa aos fragmentos da degradação da proteína desmina (PM ~ 50 kDa), durante o armazenamento *post mortem*. A degradação da desmina durante a maturação, principalmente pela ação das proteases do complexo das calpaínas, exerce uma grande influência sobre a taxa de amaciamento da carne (Koohmaraie & Geesink, 2006), pois a desmina é resistente à ação hidrolítica das catepsinas (Zeece & Katoh, 2007). Choe, Stuart, e Kim (2016), também observaram um aumento na degradação da desmina e da Troponina-T com o aumento da temperatura de maturação de lombos ovinos.



**Figura7.** Perfil representativo das proteínas miofibrilares (separados em gel SDS-PAGE 10%) da carne (*L. lumbrum*) de bovinos da raça *Nelore*, irradiada (3 kGy) ou não-irradiada, e maturada em diferentes temperaturas (1, 7 e 15 °C) por 1 e 14 dias. PM = Padrão molecular.

As calpaínas, principalmente as  $\mu$ -calpaínas, são as principais enzimas responsáveis pelo amaciamento *post mortem* da carne, sendo capazes de hidrolisar as proteínas miofibrilares troponinas-T e -I, tropomiosina e a proteína C, mas não a  $\alpha$ -actinina, miosina e a actina (Koohmaraie & Geesink, 2006). Na maturação da carne, à temperaturas menores que 4 °C, a miosina, a actina e a  $\alpha$ -actinina não são comumente degradadas, mas a degradação delas é observada quando a carne é maturada em maiores temperaturas (Sancho, Jaime, Beltrán, & Roncalés, 1994). Além disso, há também alguns indícios da participação das catepsinas na maturação com alta temperatura, como as maiores intensidades das bandas, logo abaixo da miosina e da actina e de fragmentos de PM próximo a 97 kDa. Matsukura, Okitani, Nishimuro, e Kato (1981) relacionaram o surgimento de fragmentos de 95 kDa, como parte da miosina de cadeia pesada (MHC) degradada. Esses autores relataram que a catepsina L degradou a MHC (~200 kDa), inicialmente, em um fragmento de 160 kDa, que posteriormente, foi hidrolisado, ainda mais, em fragmentos de 92, 83 e 60 kDa. Além disso, as troponinas-T e -I foram degradadas em fragmentos de 30 e 13 kDa, enquanto a  $\alpha$ -actinina foi degradada em vários fragmentos, o maior deles com um PM de 80 kDa. Por fim, Ouali (1992) sugere uma ação

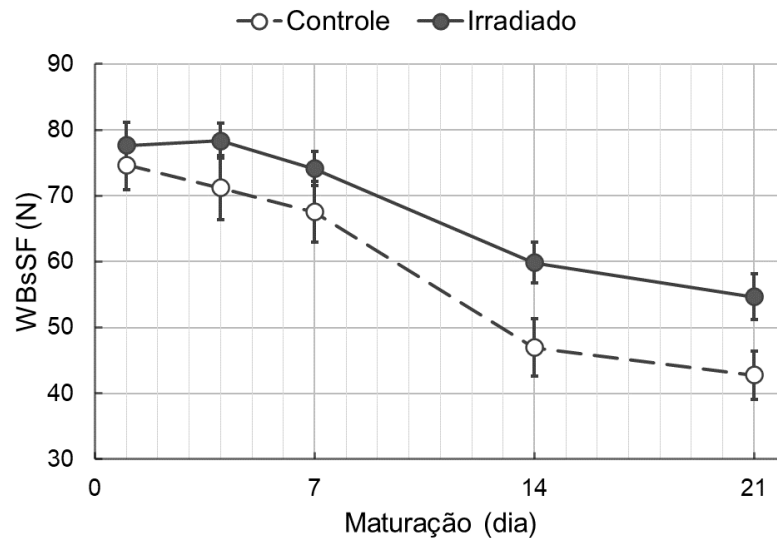
sinérgica das calpaínas e das catepsinas durante a maturação, mesmo em temperaturas de refrigeração mais baixas. Segundo esse autor, o polipeptídeo a 30 kDa surge vários dias antes do aparecimento do polipeptídeo a 27 kDa, durante a maturação, sugerindo que as calpaínas não são as responsáveis por este último.

Por fim, pode-se observar o efeito negativo da irradiação sobre a proteólise *post mortem*, principalmente, pela menor presença e intensidade das bandas com PM na faixa de 27 a 30 kDa nas amostras irradiadas e maturadas por 14 dias, à altas temperaturas (7 e 15 °C). Rowe et al. (2004) relataram que a degradação da troponina-T e da desmina até 14 dias de maturação, foi negativamente influenciada, pela irradiação gama (6,4 kGy). No entanto, Kim, Yong, et al. (2018) não observaram alterações no perfil de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas de músculo bovino irradiado (5 kGy) pré-rigor por feixes de elétrons ou por raios X.

### 3.5 Força de cisalhamento

A força de cisalhamento (WBsSF) foi afetada ( $P < 0,05$ ) pelas interações, irradiação x tempo de maturação e temperatura de maturação x tempo de maturação (Tabela 2). A WBsFS reduziu ( $P < 0,05$ ) com o tempo de maturação, sendo observado ( $P < 0,05$ ) maiores valores nas amostras irradiadas nos dias 14 e 21 (Figura 8). Essa menor ( $P < 0,05$ ) maciez corrobora a observação de menor fragmentação *post mortem* das proteínas associadas ao componente miofibrilar obtidas na carne irradiada (Figura 6).

O aumento da maciez da carne com a maturação é atribuído ao enfraquecimento e a alteração da micro e ultraestrutura das fibras musculares, oriundos da degradação das proteínas miofibrilares e citoesqueléticas, pelas proteases presentes no músculo (Dransfield, 1994). Conforme discutido anteriormente, a ação das proteases é prejudicada pela irradiação antes da maturação. Outros estudos (Grozdanov, Dimitrova, Nestorov, Dilova, & Dikova, 1982; Rodrigues et al., 2020; Rowe et al., 2004), também relataram aumento da força de cisalhamento em carne bovina submetida a baixas doses de irradiação gama ( $< 9$  kGy). No entanto, os tipos de músculo e de radiação ionizante, além do momento da aplicação (pré- ou pós-rigor) da irradiação, parecem afetar a força de cisalhamento de maneiras diferentes, pois alguns estudos (Kim, Kim, Seo, Setyabrata, & Kim, 2018; Luchsinger et al., 1997; Yim et al., 2015) relataram não haver efeito da irradiação por baixas doses sobre a maciez de carnes bovinas ou suínas.

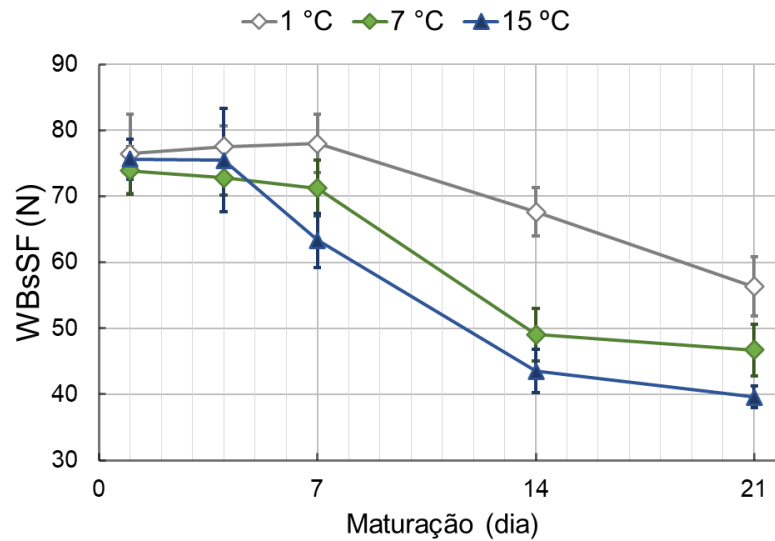


**Figura8.**Efeito da irradiação (3 kGy) na força de cisalhamento (WBsSF) da carne (*L. lumborum*) de bovinos da raça *Nelore*, durante o período de maturação. As barras representam o erro padrão da média. Dados do 21º dia das amostras não-irradiadas e maturadas a 15 °C não foram obtidos, por já se encontrarem deterioradas.

As carnes maturadas à temperaturas mais altas (7 e 15 °C) apresentaram ( $P < 0,05$ ) uma maior e mais rápida redução da WBsSF com o tempo de maturação que a temperatura convencional (1 °C; Figura9). Carnes maturadas em temperaturas de 7 ou 15 °C alcançam maior maciez (menor WBsSF) já no 14º dia de maturação, cujos valores de WBsSF são até menores ( $P < 0,05$ ) que aqueles das carnes maturadas a 1 °C por 21 dias.

Aroeira et al. (2020) relatam que carnes com valores de FC obtidos pelo teste WBsSF menores que 53 N podem ser consideradas macias, enquanto aquelas com valores entre 53 e 69 seriam de maciez intermediária. Considerando estes limites, as amostras maturadas a 15°C já teriam uma maciez intermediária no 7º dia, enquanto carnes macias seriam obtidas cerca de 14 dias a 7 ou 15 °C e apenas após 21 dias, a 1°C. Esse favorecimento da maciez também está relacionado com o favorecimento da fragmentação miofibrilar pelas maiores temperaturas (Figura5).





**Figura 9.** Efeito da temperatura de maturação (1, 7 e 15 °C) nos valores da força de cisalhamento (WBsSF) das carnes (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça *Nelore*, durante o período de maturação. As barras representam o erro padrão da média. Dados do 21º dia das amostras não-irradiadas e maturadas a 15 °C não foram obtidos, por já se encontrarem deterioradas.

A redução na FC de carnes bovinas pelo aumento da temperatura de maturação foi comprovada por outros estudos (Kim, Yong, et al., 2018; Lee et al., 1996; Sleeth et al., 1957; Yim et al., 2015). A aplicação adequada de temperaturas mais altas durante a maturação permite que os sistemas enzimáticos naturais da carne atuem em um ritmo mais rápido (Kilgannon et al., 2019), mas é necessário a aplicação de métodos de conservação adicional para controlar a multiplicação microbiana e garantir a segurança do processo. A irradiação a 3 kGy, claramente garantiu esta segurança (Figuras 2 e 3), mas reduziu a proteólise *post mortem* (Figura 6) e, conseqüentemente, a FC (Figura 8).

### 3.6 Pigmentos heme e cor instrumental

Não houve ( $P > 0,05$ ) interação entre os fatores (irradiação e temperatura e tempo de maturação) sobre a proporção dos pigmentos relativos da mioglobina (metamioglobina, MMb; deoximioglobina, DMb; e oximioglobina, OMb) e os índices de cor instrumental (CIE) obtidos na superfície das carnes após 30 minutos de *blooming* (Tabela 3).

**Tabela 3.** Efeitos da irradiação (I) e da temperatura (T) e tempo (D) de maturação nos pigmentos relativos da mioglobina e nos índices de cor CIELAB em músculos (*L. lumborum*) de bovinos da raça Nelore ( $n = 116$ ).

Efeitos	Fonte de Variação	MMb (%)	DMb (%)	OMb (%)	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h$ (graus)
Irradiação (I),kGy	0 (não-irradiado)	14,30	19,42	66,28 <sup>x</sup>	43,59 <sup>x</sup>	21,34	14,30 <sup>x</sup>	25,71	33,89
	3	16,15	20,95	62,89 <sup>y</sup>	42,52 <sup>y</sup>	20,68	13,79 <sup>y</sup>	24,68	33,82
Temperatura de Maturação (T), °C	1	16,24	19,06	64,69	42,82	21,13	14,17	25,46	33,98
	7	14,63	21,39	63,98	42,92	20,83	13,81	25,02	33,64
	15	14,87	20,18	64,95	43,39	21,03	14,14	25,37	33,95
Tempo de Maturação (D), dias	1	12,98 <sup>c</sup>	28,21 <sup>a</sup>	58,80 <sup>b</sup>	41,61 <sup>b</sup>	20,18 <sup>c</sup>	12,82 <sup>b</sup>	23,91 <sup>d</sup>	32,33 <sup>c</sup>
	4	13,31 <sup>c</sup>	19,11 <sup>b</sup>	67,59 <sup>a</sup>	43,63 <sup>a</sup>	22,64 <sup>a</sup>	14,46 <sup>a</sup>	26,87 <sup>a</sup>	32,53 <sup>c</sup>
	7	14,66 <sup>bc</sup>	19,14 <sup>b</sup>	66,20 <sup>a</sup>	43,36 <sup>a</sup>	21,30 <sup>ab</sup>	14,44 <sup>a</sup>	25,75 <sup>ab</sup>	34,21 <sup>b</sup>
	14	17,31 <sup>ab</sup>	16,55 <sup>c</sup>	66,14 <sup>a</sup>	43,64 <sup>a</sup>	20,82 <sup>bc</sup>	14,53 <sup>a</sup>	25,41 <sup>bc</sup>	35,06 <sup>ab</sup>
	21	18,60 <sup>a</sup>	17,61 <sup>c</sup>	63,79 <sup>a</sup>	42,90 <sup>a</sup>	19,86 <sup>c</sup>	13,93 <sup>a</sup>	24,30 <sup>cd</sup>	35,39 <sup>a</sup>
	EPM	0,57	0,62	0,68	0,20	0,23	0,15	0,26	0,20
$Pr > F^l$	I	<i>0,215</i>	<i>0,056</i>	<b>0,007</b>	<b>0,003</b>	<i>0,181</i>	<b>0,037</b>	<i>0,107</i>	<i>0,449</i>
	T	<i>0,520</i>	<i>0,169</i>	<i>0,662</i>	<i>0,251</i>	<i>0,874</i>	<i>0,368</i>	<i>0,730</i>	<i>0,478</i>
	D	<b>0,011</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,003</b>	<b>0,020</b>	<b>0,001</b>	<b>0,015</b>	<b>&lt;0,001</b>
	IxT	<i>0,886</i>	<i>0,311</i>	<i>0,674</i>	<i>0,166</i>	<i>0,633</i>	<i>0,153</i>	<i>0,435</i>	<i>0,433</i>
	IXD	<i>0,996</i>	<i>0,235</i>	<i>0,608</i>	<i>0,449</i>	<i>0,872</i>	<i>0,409</i>	<i>0,741</i>	<i>0,853</i>
	TxD	<i>0,965</i>	<i>0,368</i>	<i>0,243</i>	<i>0,442</i>	<i>0,917</i>	<i>0,350</i>	<i>0,790</i>	<i>0,741</i>
	IxTxD	<i>0,995</i>	<i>0,985</i>	<i>0,933</i>	<i>0,850</i>	<i>0,984</i>	<i>0,984</i>	<i>0,987</i>	<i>0,954</i>

MMb = metamiglobina; DMb = deoximioglobina; OMb = oximioglobina;  $L^*$  = luminosidade;  $a^*$  = índice de vermelho;  $b^*$  = índice de amarelo;  $C^*$  = saturação;  $h$  = ângulo de tonalidade; EPM = erro padrão da média.

\*As análises tecnológicas das amostras não-irradiadas e maturadas a 15 °C não foram realizadas no dia 21, por já se encontrarem deterioradas.

<sup>l</sup> Probabilidades significativas ( $P < 0,05$ ) foram marcadas em negrito.

<sup>x,y</sup> Médias seguidas por letras diferentes, na coluna para as doses de irradiação, diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste F.

<sup>a-d</sup> Médias seguidas por letras diferentes, na coluna dentro de temperatura ou tempo de maturação, diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

A irradiação afetou apenas o pigmento Omb, reduzindo ( $P < 0,05$ ) a sua proporção na carne irradiada em relação à carne não-irradiada (Tabela 3). Os outros pigmentos não foram significativamente ( $P > 0,05$ ) afetados, pois a redução ( $P < 0,05$ ) da proporção de Omb (-3,62%) foi dividida entre MMb (+1,83%) e DMb (+1,78), ou seja, parte dessa redução da Omb pode estar relacionada com a sua oxidação à MMb pela irradiação, enquanto parte da redução da Omb foi apenas pela sua desoxigenação à DMb. Rodrigues et al. (2020) demonstraram que doses de 3 kGy de irradiação gama provocam uma redução na atividade redutora de MMb (MRA) de carnes bovinas embaladas a vácuo, implicando em menores proporções de Omb e maiores proporções de MMb na carne após *blooming*. Isso também foi observado por Sales et al. (2020) em carnes bovinas congeladas e irradiadas a 3 kGy. Essas reduções da MRA foram atribuídas ao efeito pró-oxidante, causado pela formação de radicais livres, com a radiólise da água durante a irradiação. Os radicais formados na radiólise da água oxidam diretamente a mioglobina, convertendo-a a MMb, ou interagem com lipídeos, produzindo novos radicais, que subsequentemente também a oxidam (Brewer, 2004).

Ao reduzir a formação de Omb, a irradiação também promoveu uma redução ( $P < 0,05$ ) na luminosidade ( $L^*$ ), tornando as carnes mais escuras. Os valores do índice de amarelo ( $b^*$ ) também foram menores ( $P < 0,05$ ) nas carnes irradiadas, embora esta redução não afetou ( $P > 0,05$ ) os outros índices de cor relacionados: saturação ( $C^*$ ) e ângulo de tonalidade ( $h$ ).

A redução de  $L^*$  pode estar associada à redução de Omb, pois essa relação é tida como positiva na literatura (Aroeira et al., 2017). A carne bovina é mais susceptível às alterações de cor por processos como a irradiação, em consequência de sua grande quantidade de pigmentos heme, mas também, dependente de outros fatores, como o tipo de ambiente (embalagem) em que a carne é irradiada. Alterações na cor das carnes, causadas pela irradiação, foram reportadas como mais nítidas naquelas irradiadas em condições aeróbicas (embalagens permeáveis ao oxigênio) do que nas embaladas a vácuo (Ahn, Olson, Jo, Chen, Wu, & Lee, 1998; Kim, Nam, & Ahn, 2002), conduzidas neste experimento.

Assim como nesse experimento, uma redução nos valores de  $L^*$  e  $b^*$  foi observada com a aplicação de 2 kGy por feixes de elétrons em músculo *Longissimus* bovinos (Yim et al., 2016), enquanto em músculos *Semitendinosus* efeitos da irradiação foram dependentes da temperatura de maturação (Yim et al., 2015). No entanto, ambos os autores também relataram uma redução de  $a^*$  pela irradiação. Kim, Yong, et al. (2018) relataram efeito da irradiação (feixe de elétrons e

raio X) apenas sobre  $L^*$  e o índice de vermelho ( $a^*$ ), em que ambos reduziram nas carnes bovinas pré-rigor irradiadas a 5 kGy. Em carnes bovinas embaladas a vácuo, Kim et al. (2002) observaram apenas a redução de  $a^*$  com a aplicação de irradiação (3 kGy) por feixes de elétrons, enquanto Rodrigues et al. (2020) e Luchsinger et al. (1997) não observaram efeito nos índices de cor com a aplicação de doses de 3 kGy (irradiação gama) e 3,5 kGy (raios X), respectivamente. Esses resultados, associados ao desse experimento, corroboram a afirmativa de Rodrigues et al. (2020) de que, apesar das diferenças em relação ao tipo de músculo, tipo de fonte e momento de irradiação (pré e pós-rigor), o efeito da irradiação sobre a cor da carne bovina embalada a vácuo parece ocorrer apenas quando doses tão altas quanto 6 kGy são aplicadas.

A temperatura de maturação (1, 7 e 15 °C) não afetou ( $P > 0,05$ ) os pigmentos relativos da mioglobina nem os índices de cor das carnes (Tabela 3). Kim, Yong, et al. (2018) não observaram o efeito da alta temperatura de maturação (14 °C) nos índices  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  do músculo *Semimembranosus* bovino pré-rigor, quando comparado aos maturados a 4 °C. Os efeitos da temperatura de maturação na cor parecem ser dependentes da temperatura utilizada, uma vez que, em temperaturas maiores (25 °C), Yim et al. (2016) observaram menores valores de  $a^*$ , em músculo *Longissimus* bovinos maturados por 10 dias, quando comparados àqueles mantidos em temperaturas mais baixas (2 e 10 °C). Já em músculos *Semitendinosus*, Yim et al. (2015) relataram que apesar da temperatura de maturação (2, 10 ou 25 °C) afetar diferentemente os valores de  $L^*$  e  $b^*$  no músculo *Semitendinosus*, não foi possível definir uma relação da temperatura com estes índices.

Por fim, tanto os pigmentos relativos da mioglobina quanto os índices de cor foram afetados ( $P < 0,05$ ) pelo tempo de maturação (Tabela 3). A OMB foi maior ( $P < 0,05$ ) já no 4º dia de maturação, o que pode ser devido a uma maior penetração de oxigênio no interior da carne com a redução da taxa de consumo de oxigênio (TCO). Segundo Lanari and Cassens (1991), a TCO do músculo reduz com o armazenamento em função do esgotamento de substratos e coenzimas e da degradação das enzimas responsáveis pela respiração mitocondrial, que competem com a mioglobina pelo oxigênio atmosférico que se difunde para o interior da carne.

Assim como a OMB, um aumento ( $P < 0,05$ ) da MMb também foi observada ao longo do tempo de maturação, com consequente redução ( $P < 0,05$ ) na proporção de DMb. Esses efeitos também foram relatados por Aroeira et al. (2017) em carnes bovinas não-congeladas e maturadas

(1 °C) por 21 dias. Um acúmulo de MMb na superfície do músculo durante a maturação é esperado, em consequência da perda da MRA *post mortem* (Mancini & Hunt, 2005).

As alterações nos pigmentos relativos da mioglobina durante a maturação parecem ter afetado os índices CIE da cor das carnes, que, de forma geral, ficaram mais claras (maior valor de L\* no 4º dia) e com um tom de vermelho mais amarelado (maiores valores de b\* e h). A intensidade da cor (valores de C\*), assim como os valores de a\*, foram inconsistentes, aumentando no 4º dia e depois reduzindo nos dias finais de maturação (Tabela 3). Isso, associado ao aumento observado nos valores de h, pode ser um indicativo da perda da estabilidade da cor com a maturação, oriunda do acúmulo de MMb nas carnes (Aroeira et al., 2017).

#### **4. Conclusão**

O aumento da temperatura de maturação (7 e 15 °C) proporciona uma maior maciez nos contrafilés bovinos já aos 14 dias, quando comparados a aqueles maturados a 1 °C, por 21 dias. Apesar de doses de 3 kGy de irradiação gama minimizar o desenvolvimento microbiológico, especialmente à altas temperaturas, seu uso afetou, negativamente, a proteólise *post mortem*. No entanto, a irradiação permitiu a obtenção de carnes seguras do ponto de vista microbiológico e mais macias em um menor tempo de maturação.

O uso da irradiação gama associado à aplicação de temperaturas de refrigeração maiores que a convencional (1 °C), por um curto período de tempo, é uma abordagem com alto potencial para acelerar o amaciamento da carne bovina. No entanto, o binômio tempo-temperatura de maturação ideal deve ainda ser definido, sendo, inicialmente, sugerido o uso de temperaturas de 7 °C nos primeiros 7 dias de maturação, seguido da maturação convencional.

#### **Agradecimentos**

Os autores gostariam de agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; 430206/2016-0) pelo apoio financeiro e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado ao primeiro autor.

## Referências

- Ahn, D. U., Olson, D. G., Jo, C., Chen, X., Wu, C., & Lee, J. I. (1998). Effect of muscle type, packaging, and irradiation on lipid oxidation, volatile production, and color in raw pork patties. *Meat Science*, *49*(1), 27-39. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(97\)00101-0](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(97)00101-0)
- Aroeira, C. N., Torres Filho, R. A., Fontes, P. R., Gomide, L. A. M., Ramos, A. L. S., Ladeira, M. M., & Ramos, E. M. (2016). Freezing, thawing and aging effects on beef tenderness from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Meat Science*, *116*, 118-125. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.006>
- Aroeira, C. N., Torres Filho, R. A., Fontes, P. R., Ramos, A. L. S., Contreras Castillo, C. J., Hopkins, D. L., & Ramos, E. M. (2020). Comparison of different methods for determining the extent of myofibrillar fragmentation of chilled and frozen/thawed beef across postmortem aging periods. *Meat Science*, *160*, 107955. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107955>
- Aroeira, C. N., Torres Filho, R. A., Fontes, P. R., Ramos, A. L. S., Gomide, L. A. M., Ladeira, M. M., & Ramos, E. M. (2017). Effect of freezing prior to aging on myoglobin redox forms and CIE color of beef from Nellore and Aberdeen Angus cattle. *Meat Science*, *125*, 16-21. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.010>
- Bergman, I., & Loxley, R. (1963). Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Analytical Chemistry*, *35*, 1961-1965. <https://doi.org/10.1021/ac60205a053>
- Brewer, S. (2004). Irradiation effects on meat color - a review. *Meat Science*, *68*(1), 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.02.007>
- Chen, Y. J., Zhou, G. H., Zhu, X. D., Xu, X. L., Tang, X. Y., & Gao, F. (2007). Effect of low dose gamma irradiation on beef quality and fatty acid composition of beef intramuscular lipid. *Meat Science*, *75*(3), 423-431. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.08.014>
- Choe, J., Stuart, A., & Kim, Y. (2016). Effect of different aging temperatures prior to freezing on meat quality attributes of frozen/thawed lamb loins. *Meat Science*, *116*. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.014>
- Colle, M. J., Richard, R. P., Killinger, K. M., Bohlscheid, J. C., Gray, A. R., Loucks, W. I., Day, R. N., Cochran, A. S., Nasados, J. A., & Doumit, M. E. (2015). Influence of extended

- aging on beef quality characteristics and sensory perception of steaks from the gluteus medius and longissimus lumborum. *Meat Science*, 110(Supplement C), 32-39. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.06.013>
- Cross, H. R., Carpenter, Z. L., & Smith, G. C. (1973). Effects of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness. *Journal of Food Science*, 38(6), 998-1003. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1973.tb02133.x>
- Dransfield, E. (1992). Modelling post-mortem tenderisation--III: Role of calpain I in conditioning. *Meat Science*, 31(1), 85-94.
- Dransfield, E. (1994). Optimisation of tenderisation, ageing and tenderness. *Meat Science*, 36(1-2), 105-121.
- Geesink, G. H., Bekhit, A. D., & Bickerstaffe, R. (2000). Rigor temperature and meat quality characteristics of lamb longissimus muscle. *J Anim Sci*, 78(11), 2842-2848. <https://doi.org/10.2527/2000.78112842x>
- Grozdanov, A., Dimitrova, N., Nestorov, N., Dilova, N., & Dikova, G. (1982). Effect of low-dose irradiation and subsequent storage on the technological properties of beef. In *European Meeting of Meat Research Workers*, vol. I (3.03) (pp. 127-129).
- Haddad, G. B. S., Moura, A. P. R., Amador, A. C. S., Andrade, M. P. D., Piccoli, R. H., Ramos, A. L. S., & Ramos, E. M. (2020). Effects of freezing/thawing on technological, microbiological, and sensorial quality of beef from Nellore cattle during chilling storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, (submitted for publication).
- Hertog-Meischke, M. J. A. d., Smulders, F. J. M., & van Logtestijn, J. G. (1998). The effect of storage temperature on drip loss from fresh beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78(4), 522-526. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199812\)78:4<522::AID-JSFA150>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199812)78:4<522::AID-JSFA150>3.0.CO;2-F)
- Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71(1), 194-204. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.022>
- Huff-Lonergan, E., Mitsuhashi, T., Beekman, D. D., Parrish, F. C., Jr., Olson, D. G., & Robson, R. M. (1996). Proteolysis of specific muscle structural proteins by  $\mu$ -calpain at low pH and temperature is similar to degradation in postmortem bovine muscle. *Journal of Animal Science*, 74(5), 993-1008. <https://doi.org/10.2527/1996.745993x>

- Hwan, S.-F., & Bandman, E. (1989). Studies of Desmin and  $\alpha$ -Actinin Degradation in Bovine Semitendinosus Muscle. *Journal of Food Science*, 54(6), 1426-1430. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb05126.x>
- Hwang, I. H., Devine, C. E., & Hopkins, D. L. (2003). The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Science*, 65(2), 677-691. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00271-1](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00271-1)
- Hwang, I. H., Park, B. Y., Cho, S. H., & Lee, J. M. (2004). Effects of muscle shortening and proteolysis on Warner–Bratzler shear force in beef longissimus and semitendinosus. *Meat Science*, 68(3), 497-505. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.04.002>
- ICMFS. (1986). *Sampling for microbiological Analysis: Principles and scientific applications* (2nd ed. Vol. 2). Toronto: University of Toronto Press.
- Kanatt, S. R., Chander, R., & Sharma, A. (2005). Effect of radiation processing on the quality of chilled meat products. *Meat Science*, 69(2), 269-275. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.07.006>
- Kilgannon, A. K., Holman, B. W. B., Mawson, A. J., Campbell, M., Collins, D., & Hopkins, D. L. (2019). The effect of different temperature-time combinations when ageing beef: Sensory quality traits and microbial loads. *Meat Science*, 150, 23-32. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.11.023>
- Kim, H.-W., Kim, J.-H., Seo, J.-K., Setyabrata, D., & Kim, Y. H. B. (2018). Effects of aging/freezing sequence and freezing rate on meat quality and oxidative stability of pork loins. *Meat Science*, 139, 162-170. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.01.024>
- Kim, S. Y., Yong, H. I., Nam, K. C., Jung, S., Yim, D.-G., & Jo, C. (2018). Application of high temperature (14°C) aging of beef M. semimembranosus with low-dose electron beam and X-ray irradiation. *Meat Science*, 136, 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.10.016>
- Kim, Y. H., Nam, K. C., & Ahn, D. U. (2002). Color, oxidation-reduction potential, and gas production of irradiated meats from different animal species. *Journal of Food Science*, 67(5), 1692-1695. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08707.x>
- Koohmaraie, M., & Geesink, G. H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74(1), 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.025>



- Krzywicki, K. (1979). Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. *Meat Science*, 3(1), 1-10. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(79\)90019-6](https://doi.org/10.1016/0309-1740(79)90019-6)
- Lanari, M. C., & Cassens, R. G. (1991). Mitochondrial activity and beef muscle color stability. *Journal of Food Science*, 56(6), 1476-1479. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb08619.x>
- Lee, M., Sebranek, J., & Parrish, F. C. (1996). Accelerated postmortem aging of beef utilizing electronbeam irradiation and modified atmosphere packaging. *Journal of Food Science*, 61(1), 133-136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb14742.x>
- Li, P., Wang, T., Mao, Y., Zhang, Y., Niu, L., Liang, R., Zhu, L., & Luo, X. (2014). Effect of ultimate pH on postmortem myofibrillar protein degradation and meat quality characteristics of Chinese Yellow crossbreed cattle. *The Scientific World Journal*, 2014, 174253. <https://doi.org/10.1155/2014/174253>
- Luchsinger, S. E., Kropf, D. H., García Zepeda, C. M., Hunt, M. C., Stroda, S. L., Marsden, J. L., & Kastner, C. L. (1997). Color and oxidative properties of irradiated whole muscle beef. *Journal of Muscle Foods*, 8(4), 427-443. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.1997.tb00730.x>
- Mañas, P., & Pagán, R. (2005). Microbial inactivation by new technologies of food preservation. *Journal of Applied Microbiology*, 98(6), 1387-1399. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02561.x>
- Mancini, R. A., & Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100-121. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003>
- Matsukura, U., Okitani, A., Nishimuro, T., & Kato, H. (1981). Mode of degradation of myofibrillar proteins by an endogenous protease, cathepsin L. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Enzymology*, 662(1), 41-47. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(81\)90221-7](https://doi.org/10.1016/0005-2744(81)90221-7)
- Ouali, A. (1992). Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. *Biochimie*, 74(3), 251-265.
- Ramos, E. M., & Gomide, L. A. M. (2017). *Meat Quality Assessment: Fundamentals and Methodologies (in portuguese)* (2a ed.). Viçosa: Editora UFV.
- Rodrigues, L. M., Sales, L. A., Fontes, P. R., Torres Filho, R. A., Andrade, M. P. D., Ramos, A. L. S., & Ramos, E. M. R. (2020). Combined effects of gamma irradiation and aging on

- tenderness and quality of beef from Nellore cattle. *Food Chemistry*, 313, 126137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126137>
- Rowe, L. J., Maddock, K. R., Lonergan, S. M., & Huff-Lonergan, E. (2004). Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of  $\mu$ -calpain. *Journal of Animal Science*, 82(11), 3254-3266. <https://doi.org/10.2527/2004.82113254x>
- Sales, L. A., Rodrigues, L. M., Silva, D. R. G., Fontes, P. R., Torres Filho, R. A., Ramos, A. L. S., & Ramos, E. M. R. (2020). Effects of freezing/irradiation/thawing processes and subsequent aging on tenderness, color and oxidative properties of beef. *Meat Science*, 163, 108078. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108078>
- Sancho, R., Jaime, I., Beltrán, J. A., & Roncalés, P. (1994). A demonstration of the involvement of cathepsins in postmortem myofibrillar protein degradation at high temperature. In *Proceedings of International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST)*, (pp. SIVB.14). Netherlands: The Hague.
- Silva, D. R. G., Torres Filho, R. A., Cazedey, H. P., Fontes, P. R., Ramos, A. L. S., & Ramos, E. M. (2015). Comparison of Warner–Bratzler shear force values between round and square cross-section cores from cooked beef and pork Longissimus muscle. *Meat Science*, 103, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.12.009>
- Silva, N., Junqueira, V. C. A., Silveira, N. F. A., Taniwaki, M. H., Gomes, R. A. R., & Okazaki, M. M. (2017). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos* (5 ed. ed.). São Paulo: Blucher.
- Sleeth, R. B., Henrickson, R. L., & Brady, D. E. (1957). Effect of controlling environments conditions during aging on the quality of beef. *Food Technology*, 11, 205-208.
- WHO. (1999). High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. Report of a Joint FAO/IAEA/WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser*, 890.
- Wilson, G. D., Brown, P. D., Chesbro, W. R., Ginger, B., & Weir, C. E. (1960). The use of antibiotics and gamma irradiation in the aging of steaks at high temperatures. *Food Technology*, 143-147.
- Yim, D.-G., Jo, C., Kim, H.-J., Cha, J.-S., Kim, H. C., & Nam, K.-C. (2015). Combined effect of irradiation and ageing condition on physicochemical and microbial quality of hanwoo eye

- of round. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 35(3), 406-412. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.3.406>
- Yim, D.-G., Jo, C., Kim, H. C., Seo, K. S., & Nam, K.-C. (2016). Application of electron-beam irradiation combined with aging for improvement of microbiological and physicochemical quality of beef loin. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 36(2), 215-222. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.2.215>
- Zeece, M., & Katoh, K. (2007). Cathepsin D and its effects on myofibrillar proteins: A Review. *Journal of Food Biochemistry*, 13, 157-178. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1989.tb00391.x>

**ARTIGO 2: Efeito da irradiação gama na oxidação, na multiplicação microbiana e no perfil de compostos voláteis da carne bovina maturada em altas temperaturas**

*Effects of gamma irradiation on oxidation, microbial multiplication, and volatile compounds profile in beef aged at high temperatures*

Artigo redigido nas normas do periódico

*Food Chemistry* (ISSN 0308-8146)

## **Efeito da irradiação gama na oxidação, na multiplicação microbiana e no perfil de compostos voláteis da carne bovina maturada em altas temperaturas**

### **Resumo**

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito da irradiação gama (3 kGy) e da maturação (até 14 dias) por diferentes temperaturas (1, 7 e 15 °C), sobre a oxidação de proteínas e de lipídios, a multiplicação de mesófilos e o perfil de voláteis da carne (*M. Longissimuslumborum*) bovina. A oxidação proteica não foi afetada ( $P > 0,05$ ) pela irradiação, mas a formação de carbonilas aumentou ( $P < 0,05$ ) com o aumento do tempo e da temperatura de maturação. OTBARS foi maior ( $P < 0,05$ ) nas carnes irradiadas e maturadas por 14 dias, à altas temperaturas (7 e 15 °C). O desenvolvimento dos mesófilos foi maior ( $P < 0,05$ ) nas carnes não-irradiadas e maturadas à altas temperaturas, sendo que, a vida útil foi perdida aos 7 dias, quando maturadas a 15 °C. A irradiação reduziu ( $P < 0,05$ ) a contagem de mesófilos abaixo do limite máximo aceitável ( $10^7$  UFC/g) para todos os tratamentos. O aumento da temperatura de maturação afetou ( $P < 0,05$ ) a formação de voláteis, principalmente, aqueles relacionados a processos deteriorativos (oxidação lipídica e proteica, e desenvolvimento de micro-organismos), sendo maior ( $P < 0,05$ ) nas amostras não-irradiadas, armazenadas a 15 °C. A irradiação teve pouco efeito sobre os compostos voláteis formados e o sulfeto de dimetila (*dimethylsulfide*) apresentou potencial de uso como marcador da irradiação. Portanto, baixa dose de radiação pode ser usada para limitar a oxidação e o desenvolvimento de micro-organismos mesófilos favorecidos pelo uso de altas temperaturas de maturação da carne.

**Palavras-chave:** Grupos carbonilas; TBARS; maturação.

### **1 Introdução**

A maciez e o sabor são fatores importantes na percepção da qualidade da carne bovina pelo consumidor, e geralmente, eles estão dispostos a pagar mais caro por uma carne mais macia. A maturação é a técnica mais empregada pela indústria para o amaciamento de carnes. O aumento da maciez e o desenvolvimento de pequenos peptídeos e aminoácidos livres, responsáveis pelo sabor da carne maturada, ocorrem pela degradação da estrutura miofibrilar pela

atividade das proteases endógenas da carne (Hwang, Devine, & Hopkins, 2003; Ha et al., 2019a; Van Ba, Hwang, Jeong, & Touseef, 2012).

A maturação consiste em armazenar a carne bovina *in natura*, embalada a vácuo, em temperatura próxima a 1 °C, por três semanas, a fim de melhorar a sua maciez, o que necessita de maior espaço refrigerado, energia e custos operacionais (Rodrigues, 2020). No entanto, maiores temperaturas de maturação podem reduzir o tempo de amaciamento e aumentar a maciez da carne por favorecer a atividade dessas enzimas endógenas (Hwang, Park, Cho, & Lee, 2004), mas também, favorecem o desenvolvimento microbiano, comprometendo a vida útil da carne (Kilgannon, Holman, Mawson, Campbell, Collins, & Hopkins, 2019) e tornando quase inviável a sua aplicação no processo de maturação. Porém, o tempo de amaciamento poderia ser encurtado, se o problema de segurança microbiana em altas temperaturas pudesse ser resolvido (Lee et al., 1996; Yim, Jo, Kim, Cha, Kim, & Nam, 2015).

O uso de irradiação é uma forma de garantir a segurança microbiana no processo de maturação à altas temperaturas (Rodrigues, 2020). Desse modo, estudos recentes (Kim, Yong, Nam, Jung, Yim, & Jo, 2018; Lee, Sebranek, & Parrish, 1996; Rodrigues, 2020; Yim, Jo, Kim, Cha, Kim, & Nam, 2015; Yim, Jo, Kim, Seo, & Nam, 2016) foram conduzidos para avaliar o uso combinado de baixas doses (< 5 kGy) de radiações ionizantes (raios gama por isótopos, feixe de elétrons ou raios X) e de maiores temperaturas de maturação sobre a qualidade da carne, a fim de acelerar o amaciamento *post mortem*. No entanto, a irradiação pode causar alterações na qualidade da carne e formação de radicais livres, formados pela radiólise da molécula de água, que podem propagar a oxidação lipídica e proteica e formar compostos orgânicos voláteis (VOCs) que causam *off-flavor* e *off-odor* característicos da carne irradiada (Feng, Jo, Nam, & Ahn, 2018; Kim, Nam, & Ahn, 2002).

Entre os VOCs oriundos da irradiação, os compostos sulfurosos com o dimetil sulfeto e dimetil dissulfeto, formados a partir da degradação radiolítica de aminoácidos que contém enxofre (cisteína e metionina), são os principais responsáveis pelo *off-odor* da carne irradiada (Ahn, 2002). Alguns VOCs com potencial de causar *off-flavor* e *off-odor*, também podem ser formados pela oxidação lipídica e/ou, desenvolvimento microbiano na carne, que são favorecidos por maiores temperaturas (Casaburi, Piombino, Nychas, Villani, & Ercolini, 2015; Zhu, Mendonca, & Ahn, 2004). Segundo Paula, Buchili, Rodrigues, Guimarães, Ramos, e Ramos (2020), o dimetil sulfeto pode ser usado como marcador da irradiação, por ser encontrado na

carne irradiada de diferentes espécies. Desse modo, identificar e correlacionar os VOCs da carne submetida a novos processos tecnológicos, como, por exemplo, avaliar os efeitos do uso de altas temperaturas de maturação combinado ao processo de irradiação, é de extrema importância (Paula et al., 2020). Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do uso combinado de irradiação e de altas temperaturas sobre a oxidação proteica e lipídica, a multiplicação de mesófilos e o perfil de compostos orgânicos voláteis em contrafilés bovinos, durante a maturação por 14 dias.

## **2 Materiais e Métodos**

### **2.1 Preparo, irradiação e maturação das amostras**

Três contrafilés (*M. Longissimuslumborum*, LL) de diferentes bovinos da raça Nelore (machos, com idade, sistema de criação e condições de abate semelhantes), obtidos 48 horas *post mortem* de um abatedouro frigorífico com Inspeção Federal foram identificados, embalados a vácuo e conduzidos em caixas térmicas, ao Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes), do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Os contrafilés foram fracionados em 18 bifés (UE) de 1,5 cm de espessura, os quais foram individualmente pesados, embalados a vácuo (BS420; R. Baião, Ubá, MG, Brasil) em embalagens de náilon-poliétileno (18 µm de espessura) e aleatorizados em dois grupos de 9 UEs: não-irradiadas e irradiadas. Cada grupo de amostras foi armazenado em uma caixa térmica com gelo, que foram enviadas ao Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CDTN/CNEN), em Belo Horizonte, MG. Uma caixa foi identificada como “irradiada” e submetida à uma dose de radiação gama de 3 kGy em Irradiador Gama IR-214 (MDS Nordion; fonte de cobalto-60 e taxa de 1508,30 Gy/h). A outra caixa identificada como “não-irradiada”, foi mantida, à temperatura ambiente, na parte externa do irradiador pelo mesmo período, cerca de 119 min, das amostras irradiadas. Após a irradiação, as caixas foram novamente conduzidas ao LabCarnes e as amostras de cada um dos dois grupos foram novamente aleatorizadas nas três temperaturas de maturação (grupos de 3 UEs para 1, 7 e 15 °C), que foi conduzida em câmaras climáticas (modelo EL202; EletroLab, Brasil), com

temperatura controlada ( $\pm 0,5$  °C). As UEs de cada temperatura de maturação foram coletadas aleatoriamente e analisadas após 1, 7 e 14 dias de maturação.

## 2.2 Análise microbiológica

Para a contagem de mesófilos totais, em triplicata, 25 g de carne foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis, adicionadas de 225 mL de água peptonada (0,1%) estéril e homogeneizadas (490 golpes/minuto) por 5 minutos, em *Stomacher* (Metroterm, Brasil). Diluições decimais sucessivas foram preparadas, usando solução salina estéril, sendo a contagem dos microrganismos feita após a técnica de plaqueamento em profundidade, usando o meio *Trypticase Soy Agar* (TSA), com incubação a 37 °C/48h (Silva, Junqueira, Silveira, Taniwaki, Gomes, & Okazaki, 2017). A contagem de colônias foi expressa como logaritmo de unidades formadoras de colônia por grama (log UFC/g).

## 2.3 Oxidação proteica

A oxidação proteica foi avaliada pela quantificação dos grupos carbonilas, determinados pela derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH), conforme descrito por Mercier, Gatellier, Viau, Remignon, e Renerre (1998) e Vossen and De Smet (2015) com algumas modificações. Cerca de 2 g de carne foram pesadas e homogeneizadas (Turratrec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil) em 20 mL de tampão fosfato (20 mM; pH 6,5), contendo NaCl 0,6 M, em banho de gelo, e centrifugadas (Hettich EBA21; Thermo Fisher Scientific, USA) a 3.000g por 10 minutos. Quatro alíquotas de 0,2 mL desse homogenato foram transferidas para tubos de Eppendorf, adicionadas de 1 mL de solução de ácido tricloroacético 10% (TCA) e mantidas por 15 minutos em banho de gelo para precipitação das proteínas. Em seguida, os tubos foram centrifugados (Hettich EBA21; Thermo Fisher Scientific, USA) a 3.000g por 10 minutos e o sobrenadante cuidadosamente descartado. Os *pellets* de dois tubos foram ressuspensos com 1 mL de HCl 2,0 M (branco) e os de outros dois tubos com 1 mL de DNPH 0,2% (p/v; em HCl 2,0 M). Os tubos foram misturados em vortex e incubados por 1 hora, à temperatura ambiente (~20 °C), ao abrigo da luz, para derivatização. A seguir, as amostras foram re-precipitadas com 1 mL de TCA 10%, em banho de gelo por 15 minutos, centrifugados (Hettich EBA21; Thermo Fisher



Scientific, USA) a 3.000g por 10 minutos. Os *pellets* foram lavados duas vezes com 1 mL de solução etanol:acetato de etila (1:1, v/v), misturados em vortex e centrifugados (Hettich EBA21; Thermo Fisher Scientific, USA) a 3.000g por 10 minutos. O excesso de solvente foi removido, deixando os tubos de Eppendorf abertos por 15 minutos, em capela de exustão, e em seguida, os *pellets* foram solubilizados com 1,5 mL de tampão fosfato (20 mM; pH 6,5), conteúdo guanidinaHCl 6,0 M, homogeneizado em vortex, mantidos por 30 minutos à temperatura ambiente e centrifugados (Hettich EBA21; Thermo Fisher Scientific, USA) a 3.000g por 10 minutos, para remover o material insolúvel. A absorbância do homogenato foi lida a 370 nm, em espectrofotômetro (Genesys 10 UV; ThermoScientific Varian, São Paulo, Brasil) zerado, com tampão fosfato (20 mM; pH 6,5), conteúdo guanidinaHCl 6,0 M. A concentração total de proteína das amostras foi determinada pelo método de Biureto.

Os valores das absorvâncias do branco foram subtraídos dos valores das amostras correspondentes e o conteúdo de grupos carbonilas foi expresso como nanomoles de DNPH por miligrama de proteína (nmol DNPH/mg), usando o coeficiente de absorção ( $\epsilon$ ) de 22 mM/cm para hidrazonas a 370 nm (Vossen & De Smet, 2015).

## 2.4 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi avaliada pela determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), por meio de adaptações do método de extração aquosa descrito por Pikul, Leszczynski, and Kummerow (1989). Cerca de 5 g de carne foram pesadas e homogeneizadas (Turratec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil) em 10 mL de água de destilada e 0,5 mL de hidroxibutiltolueno (BHT) 4,2% como antioxidante. Em seguida, foi adicionado 5 mL de ácido perclórico 12% ao homogenato, que foi misturado (vortex) e filtrado em papel filtro. Uma alíquota de 2 mL do filtrado foi adicionado de 2 mL de TBA 0,08 M (em ácido perclórico 3,86%), homogeneizado em vortex e aquecido em banho-maria fervente por 10 minutos. Após resfriadas em banho de gelo por 3 minutos, a solução foi centrifugada (Hettich EBA21; Thermo Fisher Scientific, USA) a 2.200g por 20 minutos e a absorvância do sobrenadante lida a 532 nm em espectrofotômetro (Genesys 10 UV; ThermoScientific Varian, São Paulo, Brasil) utilizando o branco (TBA 0,08 M em ácido perclórico 3,86 %).

Os valores de TBARS foram expressos em miligramas de malonaldeído (MDA) por quilograma de amostra (mg MDA/kg), a partir de uma curva analítica, utilizando o 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) como padrão.

## 2.5 Perfil de voláteis

A separação e identificação dos compostos voláteis foram conduzidas na Central de Análises e Prospecção Química (CAPQ) do Departamento de Química da UFLA, utilizando um cromatógrafo a gás, acoplado a um espectrômetro de massas (GC-MS QP2010 Plus; Shimadzu®, kyoto, Japan), equipado com injetor automático para líquidos e gases (AOC-5000; Shimadzu®, kyoto, Japan) e uma coluna capilar SLB®-5MS (% *phenyl*- 95% *dimethylsiloxane*; 30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 µm filmthickness; Supelco, Bellefonte, PA, USA). O processo de extração e análise foi conduzido segundo procedimentos descritos por Paula et al. (2020), com pequenas modificações.

Para cada tempo de maturação (1, 7 e 14 dias), porções individuais dos três bifes (oriundos dos diferentes animais) foram trituradas juntas, obtendo-se uma única amostra combinada. Cerca de 2,5 g da amostra combinada foi pesada em um *vial* de 22 mL e selado com um septo de silicone/PTFE (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Os compostos orgânicos voláteis foram extraídos em *headspace* por microextração em fase sólida (SPME), utilizando-se uma fibra DVB/CAR/PDMS (10 mm length, 50-30µm thicklayer; SupelcoBellefonte, PA, USA) como fase estacionária. Antes da extração dos voláteis, a fibra foi limpa a 250 °C, por 5 minutos, para prevenir possíveis contaminações. Os *vials* foram pré-aquecidos a 60 °C, por 10 minutos, em bloco de aquecimento, e em seguida, a fibra SPME foi exposta por 45 minutos para a extração dos compostos. Em seguida, a dessorção térmica no CG foi realizada a 250 °C, por 5 minutos, com o injetor no modo *splitless*. O gás de arraste utilizado foi He 5.0 a um fluxo de 1,00 mL/min, sendo a temperatura inicial do forno mantida a 35 °C, durante 2 minutos. Posteriormente, a temperatura do forno foi aumentada, inicialmente, 2 °C/min até 80 °C, em seguida, 4 °C/min até 150 °C e, finalmente, 8 °C/min até 230 °C. O potencial de ionização do MS foi de 70 eV, operando em uma faixa de varredura de 45 a 350 Da, com um corte de solvente em 0,55 minutos. As temperaturas da interface do detector (250 °C) e da fonte de íons (200 °C) permaneceram constantes.

Os compostos voláteis foram identificados comparando os espectros de massas obtidos com os espectros de massas fornecidos pelo banco de dados da biblioteca do *software* (Wiley 8 e FFNSC 1.2) do MS e os índices de retenção obtidos comparados com a literatura, por meio da injeção de uma série homóloga de alcanos (Supelco, Bellefonte, PA, USA). A área de cada pico foi integrada usando o *software* GCMS Solutions (Shimadzu®, kyoto, Japão) e os dados apresentados como contagens totais de íons ( $TI \times 10^3$ ).

## **2.6 Análise estatística**

O experimento foi disposto em um delineamento em blocos casualizados (DBC), cujos blocos foram os diferentes animais (3 repetições). As análises microbiológica e de oxidação proteica e lipídica foram analisadas em um esquema de parcelas subdivididas, com o fatorial irradiação (0 e 3 kGy) x temperatura de maturação (0, 7 e 15 °C) na parcela e os tempos de maturação (1, 7 e 14 dias) na subparcela. A avaliação dos compostos orgânicos voláteis (VOCs) foi conduzida em um esquema fatorial irradiação (0 e 3 kGy) x temperatura de maturação (0, 7 e 15 °C), utilizando os dados de tempo de maturação (amostra combinada) como repetição. Os efeitos principal e das interações foram determinados pela análise de variância (ANOVA), considerando um nível de significância de 5%, e quando necessário, os testes de Tukey de Duncan (para os VOCs) foram utilizados para separar ( $P < 0,05$ ) as médias. Estas análises foram conduzidas no *software* Statistica, versão 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

Uma análise de componentes principais (PCA) foi realizada no *software* Sensomaker® versão 1.91 (UFLA, Brasil) para o exame exploratório dos VOCs com o tempo de maturação, bem como para vincular o conjunto de amostras com os atributos químicos e microbiológicos analisados.

## **3 Resultados e discussão**

### **3.1 Contagem de mesófilos totais**

Para a contagem de mesófilos totais, foi verificado ( $P < 0,05$ ) interação tripla entre os fatores irradiação, temperatura e tempo de maturação (Tabela 1). Esta interação foi decomposta e representada na Figura 1.

**Tabela 1.** Efeitos da irradiação (I) e da temperatura (T) e do tempo de maturação (M) a oxidação proteica (carbonilas) e lipídica (TBARS) e na multiplicação bacteriana (mesófilos) na carne (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça Nelore ( $n = 54$ ).

Efeitos	Fonte de variação	Mesófilos (log UFC/g)	Carbonilas (nmol DNPH/mg proteína)	TBARS (mg MAD/kg)
Irradiação (kGy)	0 (não-irradiado)	5,73	1,24	0,32
	3	2,50	1,38	0,21
Temperatura de maturação (°C)	1	2,52	1,19 <sup>b</sup>	0,26
	7	4,63	1,30 <sup>ab</sup>	0,30
	15	5,19	1,45 <sup>a</sup>	0,24
Tempo de maturação (dias)	1	2,12	0,79 <sup>c</sup>	0,19
	7	4,62	1,37 <sup>b</sup>	0,25
	14	5,61	1,81 <sup>a</sup>	0,35
	EPM	0,37	0,07	0,01
<i>Pr&gt;F<sup>l</sup></i>	I	<b>&lt;0,001</b>	0,248	<b>&lt;0,001</b>
	T	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,048</b>	<b>0,001</b>
	M	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
	IxT	<b>0,001</b>	0,259	0,574
	IXM	0,097	0,585	<b>0,003</b>
	TxM	<b>&lt;0,001</b>	0,420	<b>&lt;0,001</b>
	IxTxM	<b>0,002</b>	0,681	<b>0,005</b>

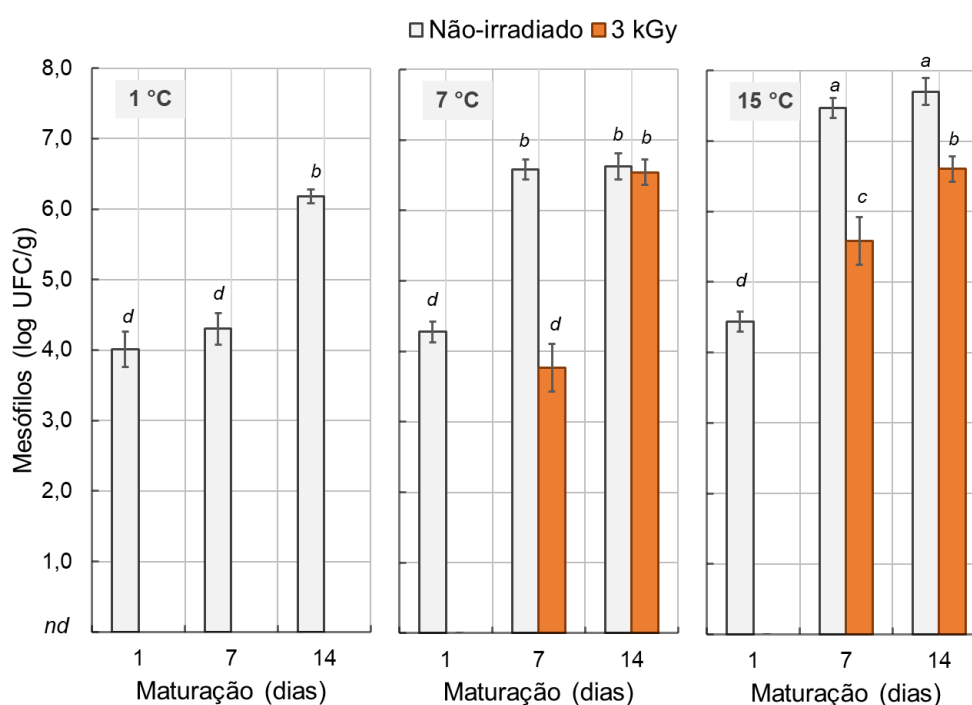
DNPH = 2,4-dinitrofenilhidrazina; TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; MAD = malonaldeído; UFC = unidade formadora de colônia; e EPM = erro padrão da média.

<sup>l</sup> Probabilidades significativas ( $P < 0,05$ ) foram destacadas em negrito.

<sup>a-c</sup> Médias seguidas por letras diferentes, na coluna dentro de temperatura ou tempo de maturação, diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

A contagem de mesófilos totais ficou abaixo do limite de detecção de 1 log UFC/g nas carnes irradiadas e maturadas à temperatura convencional (1 °C) em todos os tempos de maturação e a maiores temperaturas (7 e 15 °C), por 1 dia de maturação. No entanto, as células microbianas se recuperaram após o 1º dia de maturação com maiores temperaturas (7 e 15 °C). Além disso, uma maior ( $P < 0,05$ ) população microbiana foi observada nas carnes não-irradiadas,

independentemente da temperatura da maturação, exceto, naquelas maturadas a 7 °C, por 14 dias. A irradiação também garantiu a vida útil dos contrafilés maturados a 15 °C por 14 dias, pois manteve a contagem microbiana abaixo do limite de aceitabilidade de 7 log CFU/g para carnes *in natura* (ICMFS, 1986), enquanto que as carnes não irradiadas, já ultrapassaram esse limite após apenas 7 dias de maturação. Os efeitos antimicrobianos da irradiação e de favorecimento da multiplicação microbiana pelas maiores temperaturas de maturação, também foram relatados em trabalho anterior (Rodrigues, 2020).



**Figura 1.** Efeitos da irradiação (3 kGy) e da temperatura de maturação (1, 7 e 15 °C) sobre a contagem de bactérias mesófilas (log UFC/g) na carne (*L. lumbrum*) de bovinos da raça *Nelore*, durante o período de maturação. As barras representam o erro padrão da média. *nd* = não detectado. <sup>a-d</sup>Médias seguidas por letras diferentes, em cada temperatura de maturação, diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Os efeitos da irradiação sob a inativação microbiana ocorrem de forma direta, pela absorção da energia da irradiação pelos microrganismos ou indireta, quando é gerado radicais livres e há formação de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), oriundos da radiólise da molécula de água. Dessa forma, a parede das células bacterianas e o seu DNA podem ser danificados, levando

ao mau funcionamento das estruturas dos microrganismos (Mañas & Pagán, 2005). No entanto, o uso de altas temperaturas de maturação permite a multiplicação microbiana (Kilgannon et al., 2019), favorecendo a recuperação e proliferação dos microrganismos, inclusive nas amostras irradiadas. Lee et al. (1996) também relataram uma redução da contagem inicial de mesófilos pela irradiação, sendo a multiplicação microbiana, favorecida quando altas temperaturas foram usadas no processo de maturação. Resultados semelhantes foram encontrados por Kim et al. (2018), em músculo bovino pré-rigor, irradiado por feixes de elétrons e por raios X e maturados a 4 °C e 14 °C, e por Yim et al. (2016), em músculo bovino irradiado por feixes de elétrons e maturados a 2 °C, 10 °C e 25 °C.

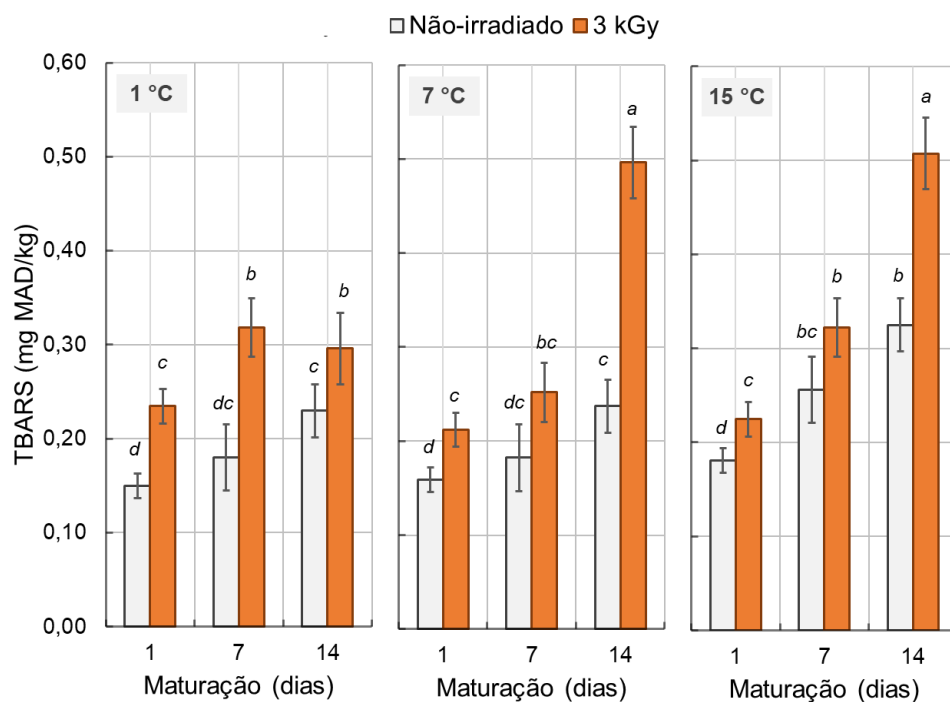
### 3.2 Oxidação proteica e lipídica

A oxidação de proteínas foi afetada ( $P < 0,05$ ) pela temperatura e pelo tempo de maturação de forma isolada (Tabela 1). Maior ( $P < 0,05$ ) teor de carbólinas foi observado nas carnes maturadas a 15 °C em relação à temperatura convencional (1 °C), os quais não diferiram ( $P > 0,05$ ) daquelas maturadas a 7 °C. O teor de carbonilas aumentou ( $P < 0,05$ ) com o tempo de maturação, *i.e.*, foi maior ( $P < 0,05$ ) na carne maturada por 14 dias do que naquela maturada por 7 dias, a qual foi maior ( $P < 0,05$ ) do que na carne maturada por apenas 1 dia. A formação de carbonilas é uma das alterações mais relevantes nas proteínas musculares oxidadas, ocorrendo o seu acúmulo nas carnes bovinas durante a maturação (Canto et al., 2016; Ha et al., 2019a), como observado no presente trabalho. Além disso, a maior oxidação proteica observada nas carnes maturadas a 15 °C pode ter sido causada pela elevação da temperatura de maturação do que aumentada a velocidade das reações de oxidação proteica durante a maturação.

No entanto, a oxidação proteica não foi afetada ( $P > 0,05$ ) pela irradiação (Tabela 1). Um aumento do teor de carbonilas era esperado nas carnes irradiadas, pois a maioria dos radicais livres (hidroxil,  $\text{OH}^\cdot$ ; superóxido,  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) e não-livres (peróxido de hidrogênio,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) identificados como possíveis precursores da oxidação proteica são gerados pela radiólise da água (Brewer, 2009; Soladoye et al., 2015). Por outro lado, Zhang et al. (2020) relataram que a irradiação a 3 kGy aumentou o teor de carbonila total da carne suína durante os 14 dias de armazenamento (a 4 °C), mas não teve efeito sobre o grupo sulfidrila. Rowe, Maddock, Lonergan, e Huff-Lonergan

(2004a), também relataram maior teor de carbonilas na carne bovina irradiada a 6,4 kGy após 7 dias de maturação (4 °C).

A oxidação lipídica foi afetada ( $P < 0,05$ ) pela interação tripla dos fatores irradiação, temperatura e tempo de maturação (Tabela 1), que foi decomposta na Figura 2. Em todas as amostras observa-se um aumento ( $P < 0,05$ ) na oxidação lipídica (maiores valores de TBARS) com o decorrer da maturação, sendo mais acentuado nas carnes irradiadas e maturadas à 7 e 15°C. Nas carnes não-irradiadas, a maturação à 15°C favoreceu o aumento do TBARS em relação às temperaturas de 1 e 7°C, as quais foram semelhantes. Além disso, o TBARS foi maior ( $P < 0,05$ ) na maioria das carnes irradiadas, quando comparada à sua contraparte não-irradiada.



**Figura 2.** Efeitos da irradiação (3 kGy) e da temperatura de maturação (1, 7 e 15 °C) sobre o TBARS (mg MAD/Kg) da carne (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça *Nelore*, durante o tempo de maturação. As barras representam o erro padrão da média. <sup>a-d</sup>Médias seguidas por letras diferentes, em cada temperatura de maturação, diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Menores temperaturas retardam a oxidação lipídica da carne, enquanto altas temperaturas aceleram esse processo (Cassens, Arnold, Miller, Gehring, & Savell, 2018). As espécies reativas ao oxigênio (ROS), formadas durante a maturação ou pela irradiação, podem interagir com os

lipídios, aumentam a oxidação lipídica (Lund, Heinonen, Baron, & Estévez, 2011). A irradiação pode alterar o potencial de oxidação-redução da carne, o que pode resultar em uma oxidação mais acelerada de lipídios, induzindo efeitos adversos que estão relacionados ao desenvolvimento de sabores (*off-flavors*) e aromas (*off-odors*) indesejáveis, além de poder proporcionar descoloração e perda de nutrientes (Brewer, 2009; Brewer, 2004; Feng et al., 2018).

Vitale, Pérez-Juan, Lloret, Arnau, e Realini (2014) observaram que o TBARS da carne bovina maturadas a 1 e 7 °C não diferiram entre os tempos de maturação (até 21 dias), embora o aumento da oxidação lipídica, ao longo do tempo, tenha sido maior por períodos mais longos do que os mais curtos, particularmente, para os 21 dias de maturação.

Chen, Zhou, Zhu, Xu, Tang, e Gao (2007) relataram que o aumento do TBARS de músculos *Semitendinosus* bovinos, embalados em sistema permeável ao oxigênio, com o aumento da dose de irradiação (de 0 a 3,17 kGy) no dia 0, porém, apesar do TBARS, aumentarem após 10 dias de armazenamento à 7 °C, eles foram menores nas carnes submetidas à irradiação. Rodrigues et al. (2020) observaram aumento do TBARS de músculos *L. lumborum*, embalados a vácuo esumetidos a dose de 9 kGy de irradiação, mas não o observaram nas doses de 3 e 6 kGy. Os autores reportaram que a embalagem da carne pode ter mais efeito sobre a oxidação lipídica do que a irradiação, pois quando a carne é irradiada em presença de oxigênio, as diferenças entre a carne irradiada e não-irradiada são mais evidentes. Na ausência do oxigênio, *i.e.*, nas carnes embaladas a vácuo, há uma redução dos efeitos pró-oxidantes da irradiação (Luchsinger et al., 1997).

Nas condições do presente trabalho, a oxidação lipídica foi mais sensível à irradiação que a oxidação proteica. Entretanto, os efeitos da irradiação sobre a oxidação lipídica foram relativamente pequenos, exceto para a carne maturada com maiores temperaturas, por 14 dias. No presente trabalho, o TBARS (0,15 a 0,32 mg MAD/kg) da carne maturada a 1°C, por até 14 dias, foram menores que aqueles (0,21 a 0,39 mg MAD/kg) nas mesmas condições, mas irradiados até 6 kGy, reportados por Rodrigues et al. (2020). Além disso, o TBARS reportado por esses autores, na carne irradiada a 9 kGy (0,87 mg MAD/kg), foi maior que aqueles (~0,50 mg MAD/kg) da carne irradiada e maturada à altas temperaturas por 14 dias, no presente trabalho.

### 3.3 Compostos voláteis



A avaliação do perfil de compostos orgânicos voláteis (VOCs) permitiu a identificação de 26 compostos (Tabela 2), que foram classificados nos seguintes grupos: ácidos carboxílicos ( $n = 1$ ), álcoois ( $n = 9$ ), aldeídos ( $n = 6$ ), cetonas ( $n = 2$ ), hidrocarbonetos ( $n = 6$ ) e compostos sulfurosos ( $n = 2$ ).

**Tabela 2.** Efeitos da irradiação (I) e da temperatura de maturação (T) sobre o perfil de compostos voláteis (contagem de íons totais  $\times 10^3$ ) da carne (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça Nelore ( $n = 18$ ). (Continua)

Grupos/Compostos	Irradiação (kGy)		Temperatura de maturação (°C)			EPM	<i>Pr&gt;F<sup>1</sup></i>		
	0 (não-irradiado)	3	1	7	15		I	T	IxT
Ácidos									
<i>Methyl-diethyl-dithiocarbamate</i>	111	69	93	112	65	23	0,304	0,863	0,971
Álcoois									
<i>1-Octen-3-ol</i>	457 <sup>x</sup>	38 <sup>y</sup>	6 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup>	722 <sup>b</sup>	105	<b>0,045</b>	<b>0,019</b>	0,074
<i>2,3-Butanediol</i>	201 <sup>x</sup>	28 <sup>y</sup>	16	232	95	59	<b>0,038</b>	0,706	0,950
<i>2-Ethylhexanol</i>	13	31	29	21	16	6	0,239	0,761	0,647
<i>Benzeneethanol</i>	35	21	0	13	70	13	0,857	0,622	0,427
<i>Ethanol</i>	363	214	100 <sup>a</sup>	260 <sup>ab</sup>	506 <sup>b</sup>	69	0,136	<b>0,021</b>	0,439
<i>Heptanol</i>	56 <sup>x</sup>	2 <sup>y</sup>	0 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>	81 <sup>c</sup>	19	<b>0,046</b>	<b>0,050</b>	0,082
<i>Hexanol</i>	245 <sup>x</sup>	2 <sup>y</sup>	0 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	367 <sup>c</sup>	86	<b>0,047</b>	<b>0,028</b>	0,102
<i>Nonanol</i>	64	13	0 <sup>a</sup>	16 <sup>b</sup>	98 <sup>c</sup>	18	0,134	<b>0,021</b>	0,222
<i>Octanol</i>	215	172	172	156	254	21	0,176	<b>0,021</b>	<b>0,044</b>
Aldeídos									
<i>Benzaldehyde</i>	1061	193	88 <sup>a</sup>	181 <sup>a</sup>	1611 <sup>b</sup>	322	0,154	<b>0,009</b>	0,214
<i>Benzeneacetaldehyde (Hyacinthin)</i>	491	121	11 <sup>a</sup>	357 <sup>ab</sup>	550 <sup>b</sup>	130	0,932	<b>0,039</b>	0,315
<i>Decanal</i>	29	6	13	7	33	6	0,746	0,131	0,512
<i>Heptanal</i>	128	34	36 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	183 <sup>b</sup>	31	0,072	<b>0,004</b>	0,225
<i>Hexanal</i>	399 <sup>x</sup>	77 <sup>y</sup>	62 <sup>a</sup>	48 <sup>a</sup>	605 <sup>b</sup>	115	<b>0,049</b>	<b>0,013</b>	0,145
<i>Nonanal</i>	1428	1026	994 <sup>a</sup>	877 <sup>a</sup>	1811 <sup>b</sup>	151	0,331	<b>0,001</b>	0,434
<i>Octanal</i>	203	125	122 <sup>a</sup>	107 <sup>a</sup>	263 <sup>b</sup>	27	0,211	<b>0,002</b>	0,440
<i>Tetradecanal</i>	393	294	146 <sup>a</sup>	310 <sup>ab</sup>	575 <sup>b</sup>	58	0,691	<b>0,007</b>	0,700
Cetonas									
<i>2-Propanone</i>	8	9	6	10	10	3	0,977	0,808	0,424
<i>3-Hydroxy-2-butanone (acetoin)</i>	152	297	224	376	74	96	0,951	0,414	0,648

**Tabela 2.** Efeitos da irradiação (I) e da temperatura de maturação (T) sobre o perfil de compostos voláteis (contagem de íons totais  $\times 10^3$ ) da carne (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça *Nelore* ( $n = 18$ ). (Conclusão)

Grupos/Compostos	Irradiação (kGy)		Temperatura de maturação (°C)			EPM	$Pr > F^1$		
	0 (não-irradiado)	3	1	7	15		I	T	IxT
Hidrocarbonetos									
<i>3-Methylpentane</i>	8	10	6	8	13	4	0,396	0,990	0,436
<i>Hexane</i>	1406	1955	1613	1848	1582	226	0,112	0,628	0,299
<i>Methylbenzene (Toluene)</i>	985	1489	1376	1284	1050	209	0,085	0,623	0,471
<i>Octane</i>	2	7	5	1	6	2	0,075	0,327	0,571
Sulfurosos									
<i>Carbondisulfide</i>	1476	1626	1593	1731	1330	143	0,664	0,592	0,941
<i>Dimethylsulfide</i>	1	79	20	40	59	9	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,048</b>	<b>0,047</b>
$\Sigma$ Ácidos	111	69	93	112	65	23	0,392	0,730	0,924
$\Sigma$ Álcoois	1650 <sup>x</sup>	520 <sup>y</sup>	323 <sup>a</sup>	724 <sup>a</sup>	2208 <sup>b</sup>	373	<b>0,046</b>	<b>0,018</b>	0,160
$\Sigma$ Aldeídos	2580	1563	1372 <sup>a</sup>	1372 <sup>a</sup>	3469 <sup>b</sup>	354	0,104	<b>0,011</b>	0,148
$\Sigma$ Cetonas	160	306	230	385	84	96	0,467	0,473	0,834
$\Sigma$ Hidrocarbonetos	3952	3774	3098	3679	4813	607	0,759	0,526	0,129
$\Sigma$ Sulfuroso	1477	1705	1613	1771	1388	145	0,459	0,592	0,924
Total	9930	7937	6729	8043	12028				

EPM = erro padrão da média.

<sup>1</sup> Probabilidades significativas ( $P < 0,10$ ) foram destacadas em negrito.

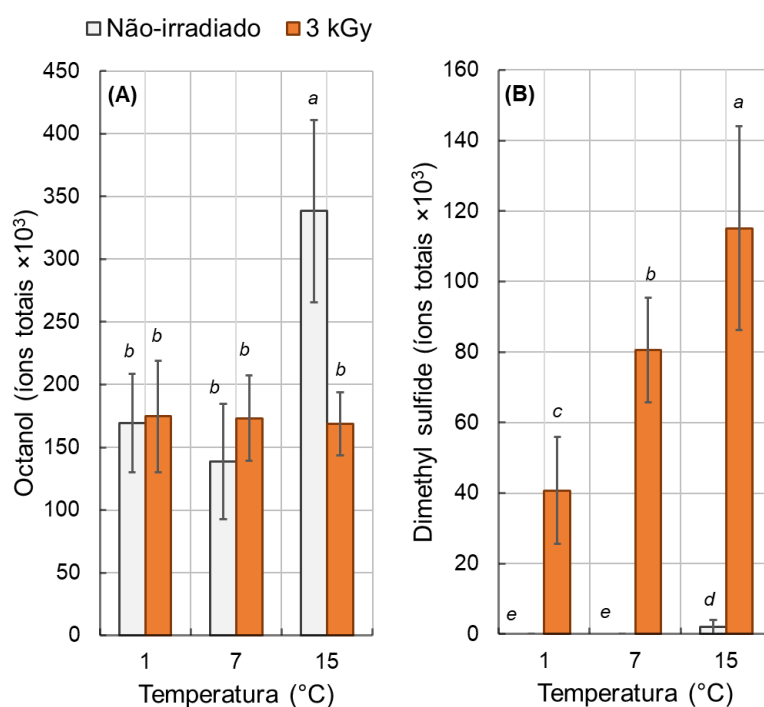
<sup>x,y</sup> Médias seguidas de letras diferentes na linha, diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste F, para as doses de irradiação.

<sup>a-c</sup> Médias seguidas de letras diferentes na linha, diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Duncan, para a temperatura de maturação.

Com relação aos grupos, houve ( $P < 0,05$ ) efeito da irradiação e da temperatura de maturação sobre os álcoois e apenas da temperatura de maturação sobre os aldeídos. Menor ( $P < 0,05$ ) quantidade de álcoois foi observada na carne irradiada, em consequência de sua menor ( $P < 0,05$ ) quantidade de 1-octen-3-ol, o 2,3-butanediol, o heptanol e o hexanol. Os álcoois, assim como as cetonas, apresentam baixo limiar de odor (Van Ba et al., 2012), o que faz com que eles contribuam para o sabor da carne. Apesar do 1-octen-3-ol poder ser formado a partir da oxidação do ácido graxo linoleico (C18: 2n-6) (Ha et al., 2019b), a produção de álcoois na carne fresca refrigerada, também está relacionada à degradação microbiana. Segundo Casaburi et al. (2015), os álcoois 1-octen-3-ol, 2,3-butanediol, heptanol e hexanol, que foram encontrados em menor ( $P < 0,05$ ) quantidade na carne irradiada, e o 2-etilhexanol estão entre os principais álcoois associados à degradação da carne, por bactérias como as *Pseudomonas ssp* e *Carnobacterium ssp*. Assim, a menor ( $P < 0,05$ ) presença deles na carne irradiada pode estar relacionada à sua ( $P < 0,05$ ) menor multiplicação microbiana (Figura 1). Paula et al. (2020), também observaram a redução ou não-identificação de compostos associados a degradação microbiana em amostras irradiadas (3, 6 e 9 kGy), em relação àquelas não-irradiadas. Em carnes bovinas moídas, Yang et al. (2011) reportaram que a irradiação (2,5 kGy) não afetou os álcoois no primeiro dia de maturação, mas, a carne não-irradiada teve uma maior quantidade de álcoois do que a irradiada a partir do 7º dia, em consequência da sua maior multiplicação microbiana.

Casaburi et al. (2015), relata ainda, que além da ação microbiana, os álcoois podem ser originados de muitas vias metabólicas, como a atividade proteolítica e o metabolismo de aminoácidos e a redução da butanone e de aldeídos, advindos da oxidação lipídica. Isto justifica o aumento dos álcoois agrupados e de alguns individualmente na carne maturada com temperaturas mais elevadas, principalmente, a 15 °C (Tabela 2). Resconi, Bueno, Escudero, Magalhaes, Ferreira, e Campo (2018) relatam um aumento na concentração de hexanol e 1-octen-3-ol (embora em um comportamento não muito claro) relacionado à intensificação da oxidação lipídica e multiplicação microbiana na carne ao longo da maturação (a vácuo por 15 ou 22 dias) e dos dias de armazenamento em *display* refrigerado (0 a 9 dias em embalagem de alta permeabilidade ao oxigênio). O Etanol, também foi relacionado por Ismail, Lee, Ko, e Ahn (2008) com a oxidação lipídica e a multiplicação microbiana na carne bovina, moída em *display* refrigerado, por 7 dias, sendo que maior quantidade de etanol foi observado nas carnes não irradiadas.

Dos álcoois identificados, apenas o octanol foi afetado ( $P < 0,05$ ) pela interação irradiação x temperatura de maturação (Tabela 2), sendo encontrado em maior concentração apenas na carne não-irradiada e maturada em temperatura de 15 °C (Figura 3A). Tal aumento pode estar relacionado ao maior desenvolvimento microbiano nessa temperatura, uma vez que Casaburi et al. (2015) relataram a produção do octanol carne inoculada com *Brochothrixthermosphacta*. A *Br. Thermosphacta* é uma bactéria psicrotrófica, anaeróbia facultativa, que representa uma porção significativa dos microrganismos deterioradores em carnes embaladas a vácuo e armazenadas em condições de refrigeração (Nychas, Skandamis, Tassou, & Koutsoumanis, 2008).



**Figura 3.** Efeito da irradiação (3 kGy) na formação de (A) octanol e (B) sulfeto de dimetila (*dimethylsulfide*) na carne (*L. lumorum*) de bovinos da raça Nelore, maturada em diferentes temperaturas de maturação (1 °C, 7 °C e 15 °C). As barras representam o erro padrão da média. <sup>a-</sup>Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Ohexanal foi o único aldeído afetado ( $P < 0,05$ ) pela irradiação. O hexanal é originário da auto-oxidação do ácido linoleico, sendo considerado um excelente indicador da oxidação lipídica

em carnes (Ross & Smith, 2006). Porém, maior ( $P < 0,05$ ) quantidade de hexanal foi observada na carne não-irradiada (Tabela 2). Kim et al. (2002) não detectaram o hexanal nas amostras de carne bovina embalada a vácuo, irradiada (3 kGy por feixe de elétrons) ou não-irradiada, mesmo após 7 dias de armazenamento. Paula et al. (2020), também observaram menor quantidade de hexanal na carne bovina embalada a vácuo, irradiada e maturada por 14 dias do que naquelas não-irradiadas, sendo que o hexanal foi mais relacionado às maiores doses de irradiação (6 e 9 kGy) pela análise de componentes principais (PCA). Segundo esses autores, apesar do hexanal ser altamente associado às amostras irradiadas, esse VOC é, também, influenciado por outras reações na carne, tornando-o um marcador limitado da irradiação de carnes maturadas.

Apesar dos aldeídos serem os principais VOCs oriundos da oxidação lipídica (Ross & Smith, 2006), a sua formação na carne, também pode estar relacionada ao desenvolvimento de micro-organismos. Segundo Casaburi et al. (2015), *Pseudomonas* ssp., *Carnobacterium* ssp. e *Enterobacteriaceae* são microrganismos capazes de produzir um alto número de aldeídos, sendo que o hexanal, o nonanal, o heptanal, o benzaldeído e o 3-metilbutanal são os mais comuns encontrados, naturalmente, na carne deteriorada. Isso explicaria a menor ( $P < 0,05$ ) produção de hexanal na carne irradiada, e também, a maior ( $P < 0,05$ ) formação de aldeídos nas carnes submetidas à temperaturas de maturação mais elevadas, pois maiores ( $P < 0,05$ ) quantidades de benzaldeído, benzeno acetaldeído, heptanal, nonanal, octanal, tetradecanal e hexanal foram observadas na carne maturada a 15 °C (Tabela 2). Esses aldeídos possuem baixo limiar de detecção (Ross & Smith, 2006) e, logo, não contribuem para o sabor e o aroma relacionados à ervas/gramíneo (*grassy*; hexanal), gorduroso/oleoso (*fatty, oily*; heptanal, octanal e decanal), verde/doce/ensaboado/frutado (*green, sweet, soapy/fruit*; octanal), sebo/ceroso (*tallowy e waxy*; nonanal), carne/queimado (*meaty e burnt*; decanal) e rançoso (*rancid*; hexanal, heptanal e decanal) (Brewer, 2009).

Quanto às cetonas e aos hidrocarbonetos, não foram ( $P > 0,05$ ) afetados pela irradiação e pela temperatura de maturação, individualmente ou agrupados. Assim como os aldeídos, esses compostos, também podem ser originados da oxidação de ácidos graxos, contribuindo para o sabor da carne (Ross & Smith, 2006). Paula et al. (2020) relataram que a maior mudança no grupo de cetonas, com a aplicação de irradiação (3 a 9 kGy), foi basicamente devido à presença do composto 3-hidroxi-2-butanona (acetoína), detectado em quantidades muito maiores nas amostras não-irradiadas. No entanto, esta redução da acetoína com a irradiação não foi ( $P > 0,05$ )

significativa no presente estudo. Alguns hidrocarbonetos aromáticos, como o metilbenzeno (tolueno), podem ser, naturalmente, encontrados na carne, como consequência da ração usada na alimentação do animal, sendo que, no caso da carne de ruminantes, podem ser formados a partir dos microrganismos do rúmex (Casaburi et al., 2015).

A ausência ( $P > 0,05$ ) de efeito da irradiação sobre o somatório de acetonas e de aldeídos é condizente com a ausência ( $P > 0,05$ ) do seu efeito sobre a quantidade de carbonilas mensurado pelo teste do DNPH (Tabela 1). Da mesma forma, o aumento ( $P < 0,05$ ) do teor de carbonilas pela maturação à altas temperaturas, também pode estar relacionado ao aumento ( $P < 0,05$ ) do somatório de aldeídos.

Por fim, houve ( $P < 0,05$ ) efeito da interação irradiação x temperatura sobre a quantidade de sulfeto de dimetila (*dimethylsulfide*), sendo decomposta e representada na Figura 3B. Assim, pode-se observar que uma maior quantidade de sulfeto de dimetila na carne irradiada e maturada à altas temperaturas (7 e 15 °C). Além disso, nas carnes não-irradiadas, este composto foi identificado em baixíssimas concentrações apenas na maturação a 15 °C. A importância do sulfeto de dimetila reside no reconhecido papel que os compostos de enxofre desempenham como os principais compostos voláteis responsáveis pelo odor de irradiação (Ahn, 2002). Segundo esses autores, os compostos sulfurosos produzidos na carne irradiada advêm da degradação radiolítica das cadeias de aminoácidos que contém enxofre (cisteína e, principalmente, metionina). Mais de um local da cadeia lateral desses aminoácidos são susceptíveis ao ataque por radicais livres e, logo, muitos voláteis são produzidos pelas reações secundárias, após a degradação radiolítica primária dessas cadeias laterais. Segundo (Brewer, 2009), a geração de novos compostos voláteis pela irradiação sugere que a degradação radiolítica das proteínas contendo enxofre é mais importante que a oxidação lipídica na formação de *off-odores*. Além disso, mesmo pequenas quantidades desses compostos são importantes para a formação do odor de irradiação, por consequência do seu baixíssimo limiar de detecção (Mottram, 1998). Assim, segundo este autor, toda carne irradiada produz um odor característico da irradiação, independentemente do grau de oxidação lipídica.

Odores semelhantes ao de “repolho”, de “enxofre”, de “vegetal estragado” ou ainda de “milho assado” podem ser produzidos, dependendo da quantidade e da degradação radiolítica dos compostos sulfurosos (Brewer, 2009). No entanto, a formação desses compostos, também pode ocorrer a partir da oxidação proteica induzida por outros fatores além da irradiação. Paula et al.

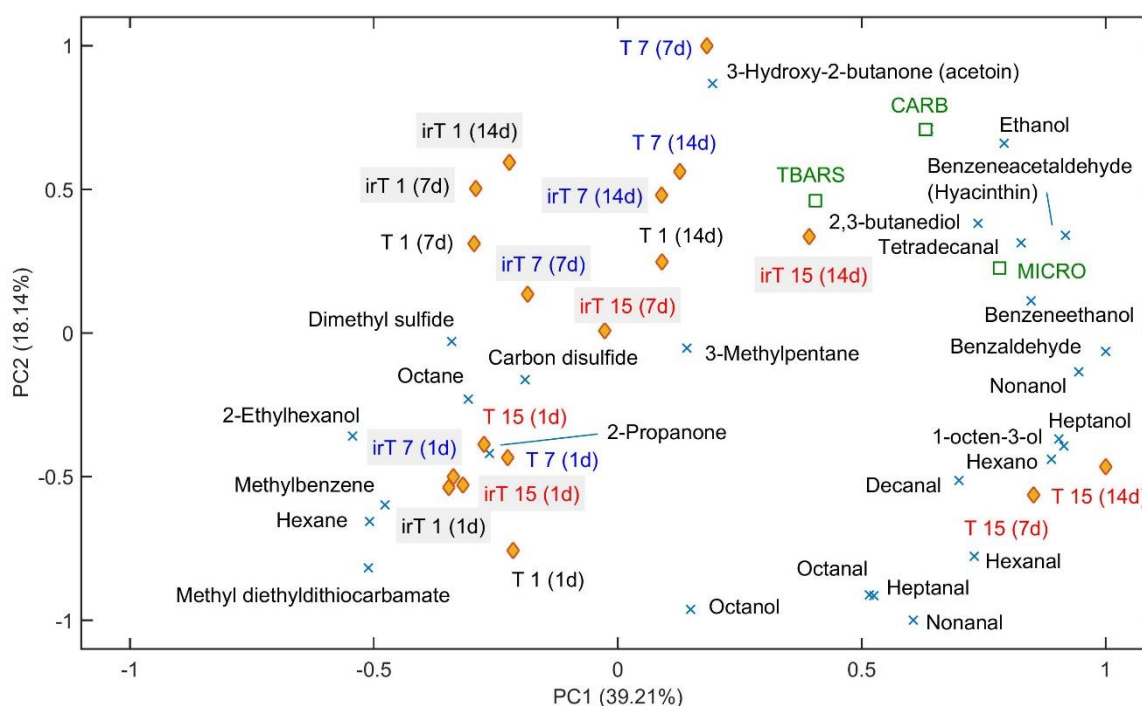
(2020) observaram que, apesar de ser detectado apenas nas amostras irradiadas no primeiro dia de maturação, o sulfeto de dimetil também foi detectado nas amostras não-irradiadas após 14 dias de maturação. No entanto, a quantidade de sulfeto de dimetil foi umavez e meia maior na carne irradiada do que naquela não-irradiada, estando mais associada a maiores doses de irradiação (6 e 9 kGy). O'Quinn et al. (2016) também detectaram sulfeto de dimetil em grandes quantidades em amostras de carne bovina, maturadas por 46 dias. Esses autores observaram que a quantidade de sulfeto de dimetil foi, positivamente, correlacionada com os sabores indesejáveis sanguinolento/metálico (*bloody/metallic*) e amargo (*bitter*) e correlacionada, negativamente, com os sabores desejáveis como caldo de carne (*beefy/ brothy*), assado/grelhado (*browned/grilled*), amanteigado/gordura bovina (*buttery/beeffat*), amendoado/noz assada (*nutty/roastednut*) e doce (*sweet*), afetando, negativamente, a aceitação pelos consumidores.

Além de acelerar os processos oxidativos na maturação à altas temperaturas, a formação de sulfeto de dimetil, também pode ser oriunda da degradação microbiana da carne. Segundo Casaburi et al. (2015), entre os compostos sulfurosos produzidos a partir da degradação microbiana da carne, estão o sulfeto de dimetil e o dissulfeto de carbono (*carbonyl disulfide*), identificados no presente estudo, existem outros como o dimetil dissulfeto (*dimethyl disulfide*) e dimetil trissulfeto (*dimethyl trisulfide*). Ainda segundo esses autores, a presença do sulfeto de dimetil foi associada à deterioração das carnes armazenadas a vácuo por bactérias *Br. thermosphacta*, enquanto a formação de dissulfeto de carbono foi observada nas amostras inoculadas com *Serratia proteamaculans*, *Pseudomonas fragi* e *Carnobacterium maltaromaticum*.

Análise de componentes principais (PCA) (Figura 4) foi realizada com os compostos voláteis individuais, para ilustrar as diferenças entre os tratamentos durante o tempo de maturação e a relação com as análises de oxidação e microbiológica. Os dois primeiros componentes principais explicaram 57,35% da variação total: o primeiro componente principal (PC1) explicou 39,21% e o segundo componente principal (PC2) explicou 18,14%. As carnes maturadas por 1 dia, independentemente da irradiação e da temperatura de maturação, estão no mesmo quadrante inferior esquerdo, oposto à oxidação lipídica e proteica e à contagem de mesófilos que estão no mesmo quadrante superior direito, indicando menor relação desses tratamentos com essas análises.



Por outro lado, as carnes maturadas por mais tempo, principalmente, a 15 °C estão mais relacionadas à essas alterações. A exceção do *2-Ethylhexanol*, os álcoois estão localizados no lado direito do primeiro componente principal, sendo que quase todos estão próximos à contagem de mesófilos, ou seja, relacionados com a carne não-irradiada, maturada a 15 °C, por 7 e 14 dias. O marcador de irradiação sulfeto de dimetila ficou próximo à maioria das carnes irradiadas, mas no quadrante oposto aos compostos associados às alterações oxidativas e microbiológica. Isso reforça que os efeitos da irradiação sobre a oxidação lipídica e proteica foram relativamente pequenos, sendo estes mais afetados pela proteólise *post mortem* e pelo desenvolvimento microbiano durante a maturação, principalmente, a temperaturas de 15 °C.



**Figura 4.** Gráfico da análise de componentes principais (PCA) dos compostos voláteis, valores de oxidação lipídica (TBARS) e proteica (CARB) e contagem de mesófilos (MICRO) da carne (*L. lumbrorum*) de bovinos da raça *Nelore*, submetidos ou não à irradiação gama (3 kGy; “ir”) e maturados em diferentes temperaturas (“T” = 1, 7 e 15 °C) por 1, 7 e 14 dias (“d”).

#### 4 Conclusões

Airradiação com 3 kGy é eficaz no controle microbiológico da carne, estendendo a vida útil da carne maturada à alta temperatura para 7 dias, sem afetar a oxidação das proteínas e com pequeno efeito sobre a oxidação lipídica, pois a elevação da temperatura de maturação, principalmente a 15 °C, acelera esses processos oxidativos nas carnes e favorece o desenvolvimento de bactérias mesófilas na carne não irradiada.

Airradiação com 3 kGy tem menos efeito sobre a formação dos compostos voláteis do que a elevação da temperatura, o que pode estar relacionado ao maior desenvolvimento de microrganismos em alta temperatura. Maior quantidade de compostos voláteis (hexanal, sulfeto de dimetila, 1-octen-3-ol, etanol, dentre outros) relacionados a processos de deterioração (oxidação lipídica e proteica, crescimento de microrganismos) ocorrem na carne maturada a 15°C.

### **Agradecimentos**

Os autores gostariam de agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; 430206/2016-0) pelo apoio financeiro e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado ao primeiro autor.

### **Referências**

- Ahn, D. U. (2002). Production of volatiles from amino acid homopolymers by irradiation. *Journal of Food Science*, 67(7), 2565-2570. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08777.x>
- Brewer, M. S. (2009). Irradiation effects on meat flavor: A review. *Meat Science* 81(1), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.07.011>
- Brewer, S. (2004). Irradiation effects on meat color - a review. *Meat Science*, 68(1), 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.02.007>
- Canto, A. C. V. C. S., Costa-Lima, B. R. C., Suman, S. P., Monteiro, M. L. G., Viana, F. M., Salim, A. P. A. A., Nair, M. N., Silva, T. J. P., & Conte-Junior, C. A. (2016). Color attributes and oxidative stability of longissimus lumborum and psoas major muscles from Nellore bulls. *Meat Science*, 121, 19-26. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.05.015>

- Casaburi, A., Piombino, P., Nychas, G. J., Villani, F., & Ercolini, D. (2015). Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage. *Food Microbiol*, *45*(Pt A), 83-102. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.02.002>
- Cassens, A., Arnold, A., Miller, R., Gehring, K., & Savell, J. (2018). Impact of elevated aging temperatures on retail display, tenderness, and consumer acceptability of beef. *Meat Science*, *146*. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.024>
- Chen, Y. J., Zhou, G. H., Zhu, X. D., Xu, X. L., Tang, X. Y., & Gao, F. (2007). Effect of low dose gamma irradiation on beef quality and fatty acid composition of beef intramuscular lipid. *Meat Science*, *75*(3), 423-431. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.08.014>
- Feng, X., Jo, C., Nam, K. C., & Ahn, D. U. (2018). Effect of irradiation on the parameters that influence quality characteristics of raw beef round eye. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *45*, 115-121. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.006>
- Ha, M., McGilchrist, P., Polkinghorne, R., Huynh, L., Galletly, J., Kobayashi, K., Nishimura, T., Bonney, S., Kelman, K. R., & Warner, R. D. (2019a). Effects of different ageing methods on colour, yield, oxidation and sensory qualities of Australian beef loins consumed in Australia and Japan. *Food Research International*, *125*, 108528. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108528>
- Ha, Y., Hwang, I., Ba, H. V., Ryu, S., Kim, Y., Kang, S. M., Kim, J., Kim, Y., & Cho, S. (2019b). Effects of dry- and wet-ageing on flavor compounds and eating quality of low fat Hanwoo beef muscles. *Food Science of Animal Resources*, *39*(4), 655-667. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e58>
- Hwang, I. H., Park, B. Y., Cho, S. H., & Lee, J. M. (2004). Effects of muscle shortening and proteolysis on Warner–Bratzler shear force in beef longissimus and semitendinosus. *Meat Science*, *68*(3), 497-505. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.04.002>
- ICMFS. (1986). *Sampling for microbiological Analysis: Principles and scientific applications* (2nd ed. Vol. 2). Toronto: University of Toronto Press.
- Ismail, H. A., Lee, E. J., Ko, K. Y., & Ahn, D. U. (2008). Effects of aging time and natural antioxidants on the color, lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef. *Meat Science*, *80*(3), 582-591. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.02.007>
- Kilgannon, A. K., Holman, B. W. B., Mawson, A. J., Campbell, M., Collins, D., & Hopkins, D. L. (2019). The effect of different temperature-time combinations when ageing beef:

- Sensory quality traits and microbial loads. *Meat Science*, 150, 23-32. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.11.023>
- Kim, S. Y., Yong, H. I., Nam, K. C., Jung, S., Yim, D.-G., & Jo, C. (2018). Application of high temperature (14°C) aging of beef *M. semimembranosus* with low-dose electron beam and X-ray irradiation. *Meat Science*, 136, 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.10.016>
- Kim, Y. H., Nam, K. C., & Ahn, D. U. (2002). Volatile profiles, lipid oxidation and sensory characteristics of irradiated meat from different animal species. *Meat Science*, 61(3), 257-265. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00191-7s](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00191-7s)
- Lee, M., Sebranek, J., & Parrish, F. C. (1996). Accelerated postmortem aging of beef utilizing electronbeam irradiation and modified atmosphere packaging. *Journal of Food Science*, 61(1), 133-136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb14742.x>
- Luchsinger, S. E., Kropf, D. H., García Zepeda, C. M., Hunt, M. C., Stroda, S. L., Marsden, J. L., & Kastner, C. L. (1997). Color and oxidative properties of irradiated whole muscle beef. *Journal of Muscle Foods*, 8(4), 427-443. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.1997.tb00730.x>
- Lund, M. N., Heinonen, M., Baron, C. P., & Estévez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: a review. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(1), 83-95. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201000453>
- Mañas, P., & Pagán, R. (2005). Microbial inactivation by new technologies of food preservation. *Journal of Applied Microbiology*, 98(6), 1387-1399. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02561.x>
- Mercier, Y., Gatellier, P., Viau, M., Remignon, H., & Renerre, M. (1998). Effect of dietary fat and vitamin E on colour stability and on lipid and protein oxidation in Turkey meat during storage. *Meat Science*, 48(3), 301-318. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(97\)00113-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(97)00113-7)
- Mottram, D. S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62(4), 415-424. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00076-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00076-4)
- Nychas, G. J., Skandamis, P. N., Tassou, C. C., & Koutsoumanis, K. P. (2008). Meat spoilage during distribution. *Meat Sci*, 78(1-2), 77-89. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.06.020>

- O'Quinn, T. G., Woerner, D. R., Engle, T. E., Chapman, P. L., Legako, J. F., Brooks, J. C., Belk, K. E., & Tatum, J. D. (2016). Identifying consumer preferences for specific beef flavor characteristics in relation to cattle production and postmortem processing parameters. *Meat Science*, *112*, 90-102. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.11.001>
- Paula, M. M. O., Buchili, A. F. M., Rodrigues, L. M., Guimarães, A. S., Ramos, A. L., & Ramos, E. M. (2020). Effects of freezing, irradiation, and aging processes on volatile profile of Nellore beef. *Food Chemistry*, (submitted for publication).
- Pikul, J., Leszczynski, D. E., & Kummerow, F. A. (1989). Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *37*(5), 1309-1313. <https://doi.org/10.1021/jf00089a022>
- Resconi, V. C., Bueno, M., Escudero, A., Magalhaes, D., Ferreira, V., & Campo, M. M. (2018). Ageing and retail display time in raw beef odour according to the degree of lipid oxidation. *Food Chemistry*, *242*, 288-300. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.036>
- Rodrigues, L. M. (2020). Application of gamma radiation on accelerated aging of beef from Nellore cattle. *Meat Science*, (submitted for publication).
- Rodrigues, L. M., Sales, L. A., Fontes, P. R., Torres Filho, R. A., Andrade, M. P. D., Ramos, A. L. S., & Ramos, E. M. R. (2020). Combined effects of gamma irradiation and aging on tenderness and quality of beef from Nellore cattle. *Food Chemistry*, *313*, 126137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126137>
- Ross, C. F., & Smith, D. M. (2006). Use of Volatiles as Indicators of Lipid Oxidation in Muscle Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *5*(1), 18-25. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.tb00077.x>
- Rowe, L. J., Maddock, K. R., Lonergan, S. M., & Huff-Lonergan, E. (2004a). Influence of early postmortem protein oxidation on beef quality. *Journal of Animal Science*, *82*(3), 785-793. <https://doi.org/10.2527/2004.823785x>
- Rowe, L. J., Maddock, K. R., Lonergan, S. M., & Huff-Lonergan, E. (2004b). Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of  $\mu$ -calpain. *Journal of Animal Science*, *82*(11), 3254-3266. <https://doi.org/10.2527/2004.82113254x>

- Silva, N., Junqueira, V. C. A., Silveira, N. F. A., Taniwaki, M. H., Gomes, R. A. R., & Okazaki, M. M. (2017). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos* (5 ed. ed.). São Paulo: Blucher.
- Soladoye, O. P., Juárez, M. L., Aalhus, J. L., Shand, P., & Estévez, M. (2015). Protein oxidation in processed meat: mechanisms and potential implications on human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *14*(2), 106-122. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12127>
- Van Ba, H., Hwang, I., Jeong, D., & Touseef, A. (2012). Principle of meat aroma flavors and future prospect. In I. Akyar (Ed.), *Latest Research into Quality Control*. December, 12th: IntechOpen.
- Vitale, M., Pérez-Juan, M., Lloret, E., Arnau, J., & Realini, C. E. (2014). Effect of aging time in vacuum on tenderness, and color and lipid stability of beef from mature cows during display in high oxygen atmosphere package. *Meat Science*, *96*(1), 270-277. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.07.027>
- Vossen, E., & De Smet, S. (2015). Protein oxidation and protein nitration influenced by sodium nitrite in two different meat model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(9), 2550-2556. <https://doi.org/10.1021/jf505775u>
- Yim, D.-G., Jo, C., Kim, H.-J., Cha, J.-S., Kim, H. C., & Nam, K.-C. (2015). Combined effect of irradiation and ageing condition on physicochemical and microbial quality of hanwoo eye of round. *Korean J Food Sci Anim Resour*, *35*(3), 406-412. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.3.406>
- Yim, D.-G., Jo, C., Kim, H. C., Seo, K. S., & Nam, K.-C. (2016). Application of electron-beam irradiation combined with aging for improvement of microbiological and physicochemical quality of beef loin. *Korean J Food Sci Anim Resour*, *36*(2), 215-222. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.2.215>
- Zhang, M., He, L., Li, C., Yang, F., Zhao, S., Liang, Y., & Jin, G. (2020). Effects of gamma ray irradiation-induced protein hydrolysis and oxidation on tenderness change of fresh pork during storage. *Meat Science*, *163*, 108058. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108058>
- Zhu, M. J., Mendonca, A., & Ahn, D. U. (2004). Temperature abuse affects the quality of irradiated pork loins. *Meat Science*, *67*(4), 643-649. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.01.005>

